



SKRIPSI – TK141581

**UJI KESTABILAN KURKUMINOID DALAM
NATURAL DEEP EUTETIC SOLVENT (NADES)
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Oleh :

**Maretna Fitri Hardianti
NRP. 02211645000002**

**Widya Wahyu Tonica
NRP. 02211645000003**

Dosen Pembimbing :

**Prof. Dr. Ir. H. M. Rachimoellah, Dipl. Est
NIP. 1949 11 17 1976 12 1001**

**Orchidea Rachmaniah, S.T., M.T
NIP. 1978 02 14 2003 12 2001**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2018**



FINAL PROJECT – TK141581

**STABILITY TEST OF KURKUMINOIDS IN
NATURAL DEEP EUTETIC SOLVENT (NADES) BY
SPECTROFOTOMETRI UV-VIS**

Students Name :

**Maretna Fitri Hardianti
NRP. 02211645000002**

**Widya Wahyu Tonica
NRP. 02211645000003**

Advisors:

**Prof. Dr. Ir. H. M. Rachimoellah, Dipl. Est
NIP. 1949 11 17 1976 12 1001**

**Orchidea Rachmaniah, S.T., M.T
NIP. 1978 02 14 2003 12 2001**

**CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA 2018**

LEMBAR PENGESAHAN

UJI KESTABILAN KURKUMINOID DALAM NATURAL DEEP EUTETIC SOLVENT (NADES) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik
Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

Maretna Fitri Hardianti
Widya Wahyu Tonica

NRP 02211645000002
NRP 02211645000003

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Orchida Rachmaniah, S.T., M.T.

(Pembimbing I)

2. Prof. Dr. Ir. H. M. Rachimoellah, Dipl. Est.

(Pembimbing II)

3. Siti Zullaikah, S.T., M.T., Ph.D.

(Penguji I)

4. Firman Kurniawansyah, S.T, M.Eng.Sc, Ph.D

(Penguji II)

5. Dr. Ir. Sumarno, M.Eng.

(Penguji III)



**UJI KESTABILAN KURKUMINOID DALAM NATURAL
DEEP EUTETIC SOLVENT (NADES) SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Nama/NRP : 1. Maretna Fitri Hardianti (02211645000002)
2. Widya Wahyu Tonica (02211645000003)
Departemen : Teknik Kimia FTI – ITS
Pembimbing : 1. Orchidea Rachmaniah, S.T., M.T.
2. Prof. Dr. Ir. H. M. Rachimoellah, Dipl.Est

ABSTRAK

Kurkumin dalam larutan berair mengalami reaksi degradasi hidrolitik. Stabilitas optimal kurkumin berada di bawah pH 7. Namun, di kondisi ini pH ini kelarutan kurkumin dalam media berair rendah. Pada pH > 7, molekul kurkumin sangat tidak stabil. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan kurkuminoid dalam berbagai jenis Natural Deep Eutectic Solvent (NADES). NADES yang dikenal sebagai pelarut ramah lingkungan yang memiliki kemampuan tinggi untuk mengekstraksi senyawa fenolik dengan interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk antara senyawa fenolik dan molekul NADES. Sebelumnya, kami telah menerbitkan bahwa sebelas jenis Pelarut Eutektik Alami (NADES) yang berbeda berhasil mengekstraksi kurkuminoid pada 40 °C selama 24 jam waktu ekstraksi; menghasilkan 0,131-0,279 mg kurkuminoids / g berat kering. Namun, hasil kurkuminoid yang diekstraksi tidak linier terhadap waktu ekstraksi. Bahkan, beberapa kurkuminoids menurun setelah diekstraksi selama 96 jam, seperti ketika MAS-H₂O (1:1:18) digunakan sebagai pelarut. Membiarkan hasil yang kurang dari 59%. Oleh karena itu, uji stabilitas kurkuminoid dalam NADES diperlukan. Mengungkapkan, apakah hasil lebih rendah karena kurkuminoid terdegradasi atau membatasi dalam proses ekstraksi. Uji stabilitas kurkuminoid dilakukan pada beberapa jenis NADES yaitu CCMA-H₂O (1:1:18), CCCA-H₂O (1:1:18), CCGo-H₂O (2:1:2), CCPro- H₂O (1:1:1), CCF-H₂O (5: 2: 4), dan MAG-H₂O (1: 1: 18) pada 40 °C selama 96 jam. Metode spektrofotometer UV-Vis yang divalidasi dan

sederhana diterapkan untuk mengukur kurkuminoid. Hasil uji menunjukkan kurkuminoid lebih stabil di CCMA-H₂O (1:1:18), CCCA-H₂O (1:1:18), dan MAG-H₂O (1:1:18) dan cenderung menurun di CCGo-H₂O (2:1:2), CCPro- H₂O (1:1:1), dan CCF-H₂O (5:2:4) dalam waktu 96 jam. Kurkuminoid itu lebih stabil pada NADES dengan kondisi asam (pH <3). Kandungan air yang lebih tinggi pada NADES dan suhu penyimpanan yang rendah (30 °C) menurunkan kestabilan kurkuminoid.

Kata kunci: Kurkumin; NADES; Spektrofotometer; Stabilitas kurkuminoid

STABILITY TEST OF KURKUMINOIDS IN NATURAL DEEP EUTETIC SOLVENT (NADES) BY SPECTROFOTOMETRY UV-VIS

**Name/NRP : 1. Maretna Fitri Hardianti (02211645000002)
2. Widya Wahyu Tonica (02211645000003)**
Department : Teknik Kimia FTI – ITS
**Advisors : 1. Orchidea Rachmaniah, S.T., M.T.
2. Prof. Dr. Ir. H. M. Rachimoellah, Dipl.Est**

ABSTRACT

Curcumin in aqueous solutions is exposed to hydrolytic degradative reactions. Optimum curcumin stability is below pH 7. However, in this pH region the solubility of curcumin in aqueous media is low. At pH > 7, the curcumin molecules are extremely unstable. This study aims to develop curcuminoid in different types of Natural Deep Eutectic Solvent (NADES). NADES which is known as environmentally friendly solvent which has a high ability to extract phenolic compounds with hydrogen bonding interactions formed between phenolic compounds and NADES molecules. Previously, we have been published that eleven of different kinds of Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) was successfully extracted kurkuminoid at 40 °C for 24 h extraction time; yielded 0.131-0.269 mg kurkuminoid /g dry weight. However, the extracted yields of kurkuminoid were not linearly to the extraction time. In fact, some of the kurkuminoid were decreased after extracted for 96 h, such when MAS-H₂O (1:1:18) was used as a solvent. Leaving a yield which was approximately less than 59%. Hence, a stability test of kurkuminoid in NADES is needed. Reveals, whether the yield is lower because the curcuminoid is degraded or limiting in the extraction process. Stability test of kurkuminoid was conducted at several kinds of NADES (i.e. CCMA-H₂O (1:1:18), CCCA-H₂O (1:1:18), CCGo-H₂O (2:1:2), CCPro-H₂O (1:1:1), CCF-H₂O (5:2:4), and MAG-H₂O (1:1:18)) at 40 °C for 96 hours. A validated and simple method of UV-Vis spectrophotometer was applied to measure the kurkuminoid. The test results show that curcuminoid is more stable in CCMA-H₂O (1:1:18),

CCCA-H₂O (1:1:18), and MAG-H₂O (1: 1:18) and tends to decrease in CCGo-H₂O (2:1:2), CCPro-H₂O (1:1:1), and CCF-H₂O (5:2:4) within 96 hours. The curcuminoid was more stable in NADES with acidic conditions (pH <3). Higher water content in NADES and lower storage temperatures (30°C) decreased the stability of the curcuminoid.

Key words: Curcumin; Curcuminoid stability; NADES; Spectrophotometer

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur penyusun panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan laporan proposal skripsi yang berjudul **"Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam *Natural Deep Eutetic Solvent* (NADES) Secara Spektrofotometri UV-Vis"**.

Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi program S-1 di Departemen Teknik Kimia, FTI - ITS.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan proposal skripsi ini dapat selesai atas bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan kasih kepada :

1. Orang tua dan seluruh keluarga yang telah memberikan doa dan dukungan kepada penyusun.
2. Bapak Juwari, S.T., M.Eng., Ph.D, selaku Kepala Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. H.M. Rachimoellah, Dipl.Est dan Ibu Orchidea Rachmania, S.T., M.T selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan saran dan masukan.
4. Ibu Dr. Lailatul Qadariyah, S.T., M.T, selaku koordinator Tugas Akhir dan Skripsi Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
5. Bapak dan Ibu Dosen Pengajar serta seluruh karyawan Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
6. Teman-teman di Laboratorium Biomassa dan Konversi Energi, serta para teman-teman LJ Ganjil 2016 yang telah memberikan saran dan motivasi.

Penyusun menyadari bahwa laporan ini masih berada jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penyusun mengharapkan adanya kritik dan saran yang bersifat konstruktif dari semua pihak bagi kesempurnaan laporan ini.

Surabaya, 25 Juli 2018
Penyusun

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Pendahuluan	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kurkumin	7
2.2 Natural Deep Eutectic Solvent (NADES)	10
2.3 Penelitian Terdahulu	13
BAB III METODELOGI PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan.....	17
3.1.1 Alat	17
3.1.2 Bahan	17
3.2 Variabel Penelitian.....	17
3.2.1 Variabel Tetap.....	17
3.2.2 Variabel Bebas	17
3.2.3 Variabel Respon	18
3.3 Metode Penelitian	18
3.3.1 Pembuatan <i>Natural Deep Eutectic Solvents</i> (NADES)	18
3.3.2 Uji Linieritas	20
3.3.3 Uji Kestabilan Kurkuminoid terhadap <i>Natural Deep Eutectic Solvents</i> (NADES).....	20
3.4 Diagram Alir Metode Penelitian	21
3.4.1 Diagram Alir Penelitian Secara Keseluruhan	21

3.4.2 Diagram Alir Pembuatan <i>Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)</i>	22
3.4.3 Diagram Alir Uji Linearitas	22
3.4.4 Diagram Alir Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Linearitas Spektrofotometri.....	25
4.2 Sifat Fisik NADES	26
4.3 Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam NADES	29
4.3.1 Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam <i>Malic Acid</i> - Glukosa (MAG-H ₂ O = 1:1:44) Pengenceran 60% berat.....	38
4.3.2 Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam <i>Malic Acid</i> - Glukosa-Air (MAG-H ₂ O = 1:1:18) pada suhu kamar (28 °C)	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	xii
APPENDIKS	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skematik Diagram Fasa Eutectic Point dari 2 Komponen (Smith, Abbott and Ryder, 2014)	12
Gambar 2. Skema Pembuatan NADES.....	19
Gambar 3. Skema Pembuatan NADES Pengenceran air sebanyak 60%-berat.....	19
Gambar 4. Skema Uji Kestabilan Kurkuminoid di dalam NADES	21
Gambar 5. Kurva Kalibrasi.....	26
Gambar 6. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H ₂ O = 1:1:18 (40°C, 96 jam).....	30
Gambar 7. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H ₂ O = 1:1:18 (40°C, 8 minggu).....	31
Gambar 8. Kestabilan Kurkuminoid dalam ProCC-H ₂ O = 1:1:1 (40°C, 96 jam).....	33
Gambar 9. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCGo-H ₂ O = 2:1:2 (40°C, 96 jam).....	33
Gambar 10. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCGo-H ₂ O = 2:1:2 (40°C,10 minggu).....	34
Gambar 11. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCF-H ₂ O = 5:2:4 (40°C, 96 jam).....	35
Gambar 12. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCF-H ₂ O = 5:2:4 (40°C, 9 minggu).....	35
Gambar 13. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCMA-H ₂ O = 1:1:18 (40°C, 96 jam).....	36
Gambar 14. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCMA-H ₂ O = 1:1:18 (40°C, 9 minggu)	37
Gambar 15. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCCA-H ₂ O = 1:1:18 (40°C, 96 jam).....	37
Gambar 16. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCCA-H ₂ O = 1:1:18 (40°C, 11 minggu)	38
Gambar 17. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H ₂ O = 1:1:44 (40°C, 96 jam).....	39

Gambar 18. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H ₂ O = 1:1:44 (40°C, 3 minggu).....	40
Gambar 19. Pembentukan Ion Fenolat.....	40
Gambar 20. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H ₂ O= 1:1:18 pada suhu ruang hingga 96 jam.....	41
Gambar 21. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H ₂ O= 1:1:18 pada suhu ruang hingga 2,5 minggu	42
Gambar 22. Kemungkinan terbentuknya ikatan hidrogen pada Malic Acid - Glukosa.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Struktur dan Sifat-Sifat Kurkuminoid	8
Tabel 2. Daftar Natural Deep Eutectic Solvent (NADES)	11
Tabel 3. Penelitian Terdahulu.....	13
Tabel 4. Sifat Fisik dari NADES pada suhu ruang (28 °C)	28

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Pendahuluan

Curcumin bersifat anti-angiogenik pada uji angiogenesis berbasis jaringan manusia (Liu et al., 2009) serta dapat diperoleh dari *turmeric* (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae). *Turmeric* mengandung tiga *curcuminoid* utama dengan struktur terkait: *curcumin*, *demethoxycurcumin*, dan *bis-demethoxycurcumin* (Heger et al., 2014). Potensi manfaat *curcumin* sebagai agen bioaktif dalam makanan fungsional, suplemen, dan obat-obatan (Liu et al., 2009) telah banyak diteliti. Pemberian *curcumin* melalui rute diet secara signifikan untuk pengurangan metastasis kanker payudara ke paru-paru pada model xenograft kanker payudara manusia (Aggarwal et al., 2014) menunjukkan bahwa ekstrak *curcumin* dan *turmeric* berpotensi sebagai obat pencegah kanker dan pengobatan infeksi dengan *Human Immunodeficiency* virus (HIV) (Srimal, 1997). Namun *curcumin* bersifat hidrofobik dengan kelarutan rendah dalam air, stabilitas kimia yang buruk (terutama dalam larutan alkalin), dan bioavailabilitas oral rendah (Heger et al., 2014). Sehingga membatasi pemanfaatan *curcumin* dalam biomedis terutama bila sistem yang digunakan mengandung air.

Curcumin dalam larutan berair terkena reaksi degradasi hidrolitik. Untuk mendapatkan stabilitas optimal, pH harus dijaga di bawah 7. Namun, di wilayah pH ini kelarutan kurkumin dalam air rendah (Tønnesen and Jan, 1985). Dalam kondisi asam (pH<7), degradasi kurkumin jauh lebih lambat, kurang dari 20% dari total kurkumin terdekomposisi pada 1 jam (Kumavat et al., 2013). Peningkatan stabilitas *curcumin* dalam kondisi pH asam disebabkan adanya struktur diena (Zebib et al., 2010). Sedangkan pada pH>7, molekul *curcumin* sangat tidak stabil. Studi degradasi alkali senyawa 1 (*diferuloylmethane*) dilakukan pada pH = 7-10 serta digunakan HPLC untuk mengidentifikasi ada/tidaknya produk dekomposisi dari *diferuloylmethane*. Degradasi awal produk terbentuk setelah 5 menit dan pola kromatografi yang

diperoleh setelah 28 jam pada pH 8,5 merupakan perwakilan untuk degradasi alkali. Produk utama dari degradasi kurkumin pada pH = 7-10 adalah asam ferulat dan *feruloylmethane*. *Feruloylmethane* dengan cepat membentuk produk kondensasi berwarna (sebagian besar berwarna kuning hingga kuning kecoklatan). Produk degradasi yang dibentuk oleh hidrolisis *feruloylmethane* adalah vanilin dan aseton dan jumlah mereka meningkat dengan waktu inkubasi (Tønnesen and Jan, 1985).

Baru-baru ini ditemukannya cairan ionik (IL) dan pelarut eutektik dalam (DES) telah menarik perhatian besar untuk menggantikan pelarut organik yang telah diterapkan pada banyak proses kimia seperti ekstraksi dan sintesis (Dai et al., 2013a). *Ionic liquids* (ILs) adalah campuran dari garam organik dengan titik leleh rendah ($<100^{\circ}\text{C}$) yang tersusun dari kation organik dan anion organik atau anorganik (Welton, 1999). Mencampur garam dan/atau senyawa organik dapat menyebabkan pengurangan titik leleh yang cukup besar, mengubahnya menjadi cairan bahkan pada suhu yang sangat rendah (Choi et al., 2011). Namun, ILs sintetis mempunyai toksisitas tinggi dari beberapa bahan penyusunnya (Zhao et al., 2007). Sehingga ILs tidak dapat digunakan secara meluas dalam produk-produk terkait farmasi dan makanan (Dai et al., 2013a). Selain itu, dalam pembuatannya ILs memerlukan biaya tinggi mengingat komponen-komponen penyusunnya adalah senyawa-senyawa hasil sintesa dengan kemurnian tinggi (Dai et al., 2013b).

Deep-eutectic solvent (DES) diperkenalkan oleh Abbott dan rekannya pada tahun 2003 (Abbott et al., 2003). Pelarut-pelarut ini terdiri dari campuran senyawa organik dan memiliki titik leleh yang jauh lebih rendah di bawah komponen-komponen penyusunnya (Dai et al., 2013b), akibat terbentuknya ikatan hidrogen intermolekuler (Dai et al., 2013a). Interaksi *hydrogen bond* dan van der Waals mencegah kristalisasi bahan, sehingga dihasilkan campuran berwujud cair (Francisco et al., 2013). DES memiliki keunggulan sebagai pelarut dibandingkan ILs. Mengingat DES lebih ramah lingkungan, lebih murah, *biodegradable*,

toksistas yang dapat diterima farmasi, dan lebih sederhana dalam pembuatannya (Dai et al., 2013b). Namun, viskositas tinggi dan wujudnya yang padat pada sebagian besar DES pada suhu kamar membatasi aplikasi DES sebagai pelarut pada proses ekstraksi (Abbott et al., 2004, Imperato et al., 2005).

Choi et al. (2011) mengusulkan adanya pelarut ketiga selain air dan *lipid* dalam organisme hidup, yang disebut sebagai *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). NADES merupakan pelarut eutektik alami, terbentuk dari berbagai kombinasi metabolit primer (gula, gula alkohol, asam organik, asam amino dan amina, yang memiliki beberapa gugus hidroksil, gugus karboksil, atau gugus amino (Choi et al., 2011)) yang berlimpah dan ditemukan di semua jenis organisme pada molar rasio tertentu. NADES adalah pelarut eutektik dengan sifat unik (Zhao et al., 2007). NADES memiliki beberapa keunggulan dibandingkan ILs, biaya rendah, biodegradabilitas, non-toksistas, keberlanjutan, dan metode persiapan sederhana. Selain itu, NADES memiliki sifat fisikokimia yang sangat baik sebagai pelarut: volatilitas dapat diabaikan, keadaan cair bahkan jauh di bawah 0 °C, viskositas yang dapat disesuaikan, rentang polaritas yang luas, dan kekuatan solubilisasi yang tinggi untuk berbagai macam senyawa (Dai et al., 2013b, Francisco et al., 2013).

Dai et al (2013b) mempelajari ekstraksi senyawa fenolik dari *safflower*, menggunakan NADES:LAG-H₂O, CCG-H₂O, dan FGS-H₂O; diketahui bahwaNADES memiliki kemampuan tinggi untuk mengekstraksi senyawa fenolik, terkait dengan adanya interaksi ikatan-H yang terbentuk antara senyawa fenolik dan molekul NADES (Dai et al., 2013b). Sifat fisik NADES juga memiliki pengaruh besar dalam ekstraksi, seperti polaritas dan viskositas. Kelarutan *curcumin* yang rendah dalam airteratasi dengan penggunaan NADES sebagai pelarutnya. Kurkuminoid dari *Curcuma zaodaria* berhasil diekstraksi menggunakan berbagai jenis NADES: FG-H₂O (1:1:7), CAS-H₂O (1:2:15); CAS-H₂O (1:2:79); MAS-H₂O (1:1:11) dan MAS-H₂O (1:1:18) pada 40 °C selama 24 jam waktu ekstraksi. Perolehan yield kurkuminoid

sebesar 0,131-0,279 mg kurkuminoid/g berat kering (Fauziyah dan Widiana, 2017; Fazriyah dan Seftiyani, 2017). Namun, perolehan yield kurkuminoid terekstrak tidak linear terhadap waktu ekstraksi. Bahkan, beberapa yield kurkuminoid menurun setelah dilakukan ekstraksi selama 96 jam; sebagaimana saat MAS-H₂O (1: 1: 18) digunakan sebagai pelarut, perolehan yield menurun <59% setelah 96 jam waktu ekstraksi (Fazriyah dan Seftiyani, 2017). Oleh karena itu, kestabilan kurkuminoid dalam NADES diperlukan. Mengungkapkan, apakah hasil lebih rendah karena kurkuminoid terdegradasi atau membatasi proses ekstraksi.

Uji kestabilan sebelumnya, telah dilakukan oleh Algusta dan Wardhana (2017), dengan jenis NADES: FG-H₂O (1:1:7), CAS-H₂O (1:2:15); CAS-H₂O (1:2:79); MAS-H₂O (1:1:11) dan MAS-H₂O (1:1:18) pada 40 °C selama 96 jam waktu ekstraksi. NADES MAS-H₂O memberikan kestabilan kurkuminoid yang paling baik dibandingkan NADES CAS-H₂O ataupun FG-H₂O. Pada penelitian ini, uji stabilitas kurkuminoid dilakukan pada NADES: CCMA-H₂O (1: 1: 18), CCCA-H₂O (1: 1: 18), CCGo-H₂O (2: 1: 2), CCPro-H₂O (1: 1: 1), CCF-H₂O (5: 2: 4), dan MAG-H₂O (1: 1: 18), pada 40 °C selama 96 jam. Metode analisa kurkuminoid dalam matrik NADES secara spektrofotometer UV-Vis yang telah divalidasi diterapkan sebagai metode pengukuran (Algusta dan Wardhana, 2017).

1.2 Rumusan Masalah

Kurkuminoid dari *Curcuma zaodaria* berhasil diekstraksi menggunakan berbagai jenis NADES, FG-H₂O (1:1:7), CAS-H₂O (1:2:15); CAS-H₂O (1:2:79); MAS-H₂O (1:1:11), dan MAS-H₂O (1:1:18), pada 40°C selama 24 jam waktu ekstraksi; menghasilkan 0,131-0,279 mg kurkuminoids/gr berat kering. Namun, hasil kurkuminoid yang diekstraksi tidak linier terhadap waktu ekstraksi. Bahkan, beberapa kurkuminoids menurun setelah diekstraksi selama 96 jam seperti ketika MAS-H₂O (1:1:18) digunakan sebagai pelarut, memberikan yield <59%. Oleh karena itu, uji stabilitas kurkuminoid dalam NADES diperlukan. Uji

kestabilan kurkuminoid telah dipelajari pada NADES golongan asam dan netral yaitu (FG-H₂O (1:1:7), CAS-H₂O (1:2:15); CAS-H₂O (1:2:79); MAS-H₂O (1:1:11) dan MAS-H₂O (1:1:18). Hasil menunjukkan bahwa NADES jenis asam (CAS-H₂O (1:2:15); CAS-H₂O (1:2:79); MAS-H₂O (1:1:11) dan MAS-H₂O (1:1:18), memberikan kestabilan yang paling baik dibandingkan NADES golongan netral (FG-H₂O (1:1:7)).

Mengungkapkan, hasil NADES golongan asam memberikan kestabilan yang baik, maka kami memperlebar uji kesatbilan pada NADES golongan basa, ionik dan asam jenis lainnya untuk mengetahui kestabilan kurkuminoid secara lebih luas di dalam NADES. Uji stabilitas kurkuminoid dilakukan pada beberapa jenis NADES yaitu CCMA-H₂O (1:1:18), CCCA-H₂O (1:1:18), CCGo-H₂O (2:1:2), CCPro- H₂O (1:1:1), CCF-H₂O (5: 2: 4), dan MAG-H₂O (1: 1: 18) pada 40 °C selama 96 jam. Metode spektrofotometer UV-Vis sederhana yang telah tervalidasi diterapkan untuk mengukur kurkuminoid.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kestabilan senyawa kurkuminoid di dalam *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES): MAG-H₂O (1:1:18), LAG-H₂O (5:1:3), ProCC-H₂O (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2), CCF-H₂O (5:2:4), CCMA-H₂O (1:1:18), dan CCCA-H₂O (1:1:18)
2. Mengetahui pengaruh kandungan air di dalam NADES (NADES terbaik) terhadap kestabilan kurkuminoid.
3. Mengetahui pengaruh suhu kamar terhadap kestabilan kurkuminoid di dalam NADES (NADES terbaik).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mengetahui kestabilan senyawa kurkumin dalam pelarut *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES):MAG-H₂O (1:1:18), LAG-H₂O (5:1:3), ProCC-H₂O (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2), CCF-H₂O (5:2:4), CCMA-H₂O (1:1:18), dan CCCA-H₂O (1:1:18).

BAB II

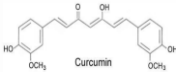
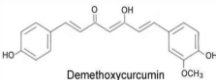
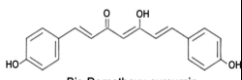
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kurkumin

Kurkumin adalah salah satu senyawa yang digambarkan sekitar dua abad yang lalu sebagai “*yellow coloring-matter*” dari rimpang *Curcuma longa* (Vogel, P.J., 1815). Senyawa alami yang tidak beracun ini telah diketahui memiliki beberapa aktivitas biologis yang bermanfaat untuk pengobatan kanker, meningkatkan keberhasilan pada agen kemoterapi dan mengurangi efek samping toksik yang merupakan kelemahan utama dari kebanyakan agen kemoterapi (Pongrakhananon and Rojanasakul., 2011). Demikian juga, mutasi ras proto-onkogene telah diidentifikasi pada banyak jenis tumor (Rajalingam et al., 2007). Disregulasi onkogen ini juga dikenal sebagai langkah awal dalam pengembangan tumorigenesis. Menariknya, kurkumin telah dilaporkan memiliki efek supresif pada onkogen dan menghambat efektor hilir mereka seperti pada siklus sel dan protein proapoptotik (Singh and Singh, 2009). Kurkumin dapat menunjukkan khasiat antikanker melalui kemampuannya untuk menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis. Efek anti-proliferatif kurkumin tergantung pada konsentrasi, lama pengobatan, dan jenis sel spesifiknya. Pada dosis rendah, kurkumin menyebabkan penangkapan sel siklus, sementara pada dosis yang lebih tinggi kurkumin menginduksi apoptosis (Pongrakhananon and Rojanasakul., 2011).

Kurkumin di isolasi dari rimpang kunyit, yang termasuk dalam *Ginger Family, Zingiberaceae*. Kunyit berasal dari pigmen polifenolik yang dikenal sebagai Kurkuminoids. Kurkuminoids terutama terdiri dari campuran kurkumin (77%), demethoxykurkumin (DMC) (17%) dan bisdemethoxykurkumin (BDMC) (3%). Secara kimia, kurkumin murni adalah *diferuloyl methane molecule* (1,7-bis (4-hidroksi-3-methoxyphenol) -1,6-heptadiena-3,5-dione) yang mengandung dua residu *ferulic acid* yang digabungkan dengan *methylene bridge* (Gupta et al., 2013).

Tabel 1. Struktur dan Sifat-Sifat Kurkuminoid (Valizadeh Kiamahalleh et al., 2016)

Kurkuminoid	Kurkumin	Demetoksi-kurkumin	Bisdemetoksi-kurkumin
Struktur Kimia			
Nama IUPAC	(1E,6E)-1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione	(1E,6E)-1,6-Heptadiene-3,5-dione, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl)	(1E,6E)-1,7-bis (4-hydroxyphenyl) hepta-1,6-diene-3,5-dione
Nama lain	Kurkumin, diferuloyl methane, C.I.75300. Natural Yellow 3	4-hydroxycinnamoyl (feroyl) methane, Kurkumin II, BHCfM	Bis (4-hydroxycinnamoyl) methane, BHCMT
Rumus Kimia	$C_{21}H_{20}O_6$	$C_{20}H_{18}O_5$	$C_{19}H_{16}O_4$
Berat Molekul	368,38 gr/mol	338,35 gr/mol	308,33 gr/mol
Warna	Bright yellow to orange powder	Yellow powder	Yellow powder
Titik Leleh	183°C (361°F ; 456 K)	172°C (342°F ; 445 K)	222°C (432°F ; 495 K)

Kurkuminoid terdiri dari dua fenol teroksidasi yang dihubungkan melalui dua gugus karbonil α , β -tak jenuh. Kurkumin kaya akan turunan *terpene* dan mengandung *sesquiterpenes* dan turunan oksigenik yang didominasi monosiklik, seperti turmerone

dan zingibrene (Aggarwal et al., 2014). Kurkumin tidak mudah larut dalam air, sedangkan ia larut dalam pelarut organik, seperti dimetil sulfoksida, etanol, metanol atau aseton, dan memiliki titik lebur 183 °C. Kurkumin menyajikan penyerapan spektrofotometri maksimum 430 nm dalam metanol dan 415-420 nm dalam aseton (Perrone et al., 2015).

Beberapa karakteristik Kurkumin berdasarkan kelarutan dan kestabilannya terhadap pH, air dan suhu diantaranya sebagai berikut:

1. *Kurkumin* memiliki titik leleh 176-177°C, membentuk garam coklat kemerahan dengan alkali (Bagchi, 2012).
2. Kurkuminoids dalam bentuk kristal tidak larut dalam air pada pH asam dan netral, tetapi larut dalam metanol, etanol, alkali, keton, asam asetat, diklorometan (DCM) atau dimethyl sulfoxide (DMSO) dan kloroform (Hartati, 2013).
3. 90% Kurkumin terdekomposisi sangat cepat pada larutan pH netral. Peningkatan stabilitas Kurkumin terjadi pada pH asam, yang diakibatkan oleh adanya hubungan struktur diene. Namun ketika pH diatur menjadi netral, proton kemudian terlepas dari struktur Kurkumin yang mengakibatkan rusaknya struktur Kurkumin (Kumavat et al., 2013).
4. Kurkumin berada pada kondisi paling stabil pada 10-55 °C dan akan terdegradasi secara total pada 70 °C selama 24 jam membentuk vanilin, asam vanilin, asam ferulat, feruloylmethane, dan p-hydroxybenzaldehyde (Salim et al., 2014)

Kurkumin rentan terhadap perubahan pH dan cahaya. Kurkumin terdegradasi menjadi trans-6-(40-hydroxy-30-methoxyphenyl)-2, 4-dioxo-5-hexanal, asam ferulat, feruloylmethane dan vanillin. Feruloylmethane dengan cepat membentuk warna produk kuning sampai kuning kecoklatan. Di bawah kondisi asam, degradasi kurkumin kurang dari 20% dari total kurkumin. Pada pH<1, larutan memiliki warna kuning oranye; pada pH = 1-7, kelarutan kurkumin di dalam air sangat rendah dan larutannya berwarna kuning; dan pH >7,5 warna larutan berubah

dari kuning menjadi merah. Kurkumin akan terdegradasi <1% kurkumin (dari keseluruhan total kurkumin) pada kondisi tanpa cahaya dalam 6 jam; sedangkan pada kondisi terkena cahaya, kurkumin akan terdegradasi 40% (Kumavat *et al.*, 2013). Kurkumin dalam larutan encer mengalami reaksi degradasi hidrolitik. Untuk mendapatkan stabilitas optimum dari kurkumin pH harus dipertahankan di bawah 7; namun kelarutan kurkumin rendah.

2.2 Natural Deep Eutectic Solvent (NADES)

NADES merupakan cairan yang terbuat dari metabolit utama (gula, alkohol, asam organik, asam amino, dan amina) yang diikat oleh interaksi intermolekul yang kuat, terutama ikatan hydrogen (Dai, van Spronsen, *et al.*, 2013). Berdasarkan senyawa-senyawa penyusunnya, NADES dikelompokkan dalam tipe-tipe sebagai berikut (Dai, van Spronsen, *et al.*, 2013)

Cairan ionik, terdiri dari asam-asam organik (asam sitrat, asam maleat, asam laktat) dan senyawa-senyawa basa (*choline chloride*, *betaine chloride*, dan *betaine*).

1. NADES netral, tidak ada konstituen ionik, seperti campuran *polyalcohols* (gliserol, glisin, 1-2-propandiol).
2. NADES yang bersifat asam, terdiri dari senyawa-senyawa netral (glukosa, fruktosa, sukrosa, maltosa, *trehalose*) dan senyawa-senyawa asam.
3. NADES yang bersifat basa, yang terdiri dari senyawa-senyawa netral dan senyawa-senyawa basa.
4. NADES yang bersifat amfoter, kombinasi dari asam amino (α -*Proline*, β -*Alanine*) dan gula, *polyalcohol*, atau senyawa-senyawa asam.

Tabel 2. Daftar Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) (Choi et al, 2011)

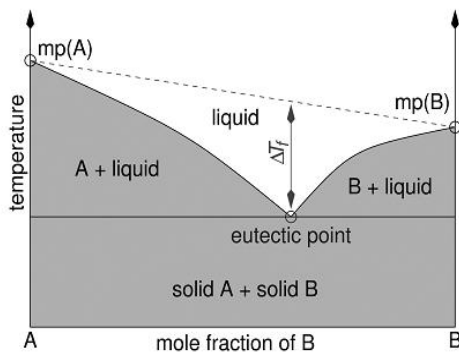
Kombinasi	Molar Rasio
Asam sitrat:choline chloride	1:2, 1:3
Asam maleat:choline chloride	1:1, 1:2, 1:3
Asam maleat:choline chloride	1:1, 1:2, 1:3
Aconitic acid:choline chloride	1:1
Glysin:choline chloride:air	1:1:1
Fruktosa:choline chloride:air	1:1:1
Sukrosa:choline chloride: air	1:1:1
Asam sitrat:Proline	1:1, 1:2, 1:3
Asam maleat:Glysin	1:1
Asam maleat:Fruktosa	1:1
Asam maleat:Sukrosa	1:1
Asam sitrat:Glysin	2:1
Asam sitrat:trihalose	2:1
Asam sitrat:Sukrosa	1:1
Asam maleat:Glysin	4:1
Asam maleat:Sukrosa	1:1
Glycine:Fruktosa	1:1
Fruktosa:Sukrosa	1:1
Glysin:Sukrosa	1:1
Sukrosa:Glysin:Fruktosa	1:1:1

Natural Deep eutectic solvent (NADES) menjadi salah satu alternatif pelarut organik yang ramah lingkungan. Eutektik adalah campuran umumnya dari dua komponen yang memiliki titik leleh terendah. Campuran eutektik didefinisikan sebagai campuran dari dua komponen yang biasanya tidak berinteraksi pada perbandingan mol tertentu dan mampu menghambat proses kristalisasi satu sama lain sehingga menghasilkan sebuah sistem yang memiliki titik leleh yang lebih rendah dari komponen individunya.

Pembentukan campuran eutektik biasanya dipengaruhi oleh beberapa faktor (Olawale, Amuda and Akabekwa, 2008) yaitu:

- Komponen lebih mudah tercampur dalam fase liquid dan sebagian besar tidak tercampur pada fase padatan.

- Kontak yang konsisten antar komponen pembentuk campuran eutektik dibutuhkan untuk penurunan titik leleh secara kontak induksi.
- Komponen pembentuk termasuk dalam komponen kimia yang dapat berinteraksi membentuk ikatan fisik yang bersifat intermolekuler seperti ikatan hidrogen.
- Molekul yang sesuai dengan persamaan Vant Hoff yang dimodifikasi dapat membentuk campuran eutektik.



Gambar 1. Skematik Diagram Fasa Eutectic Point dari 2 Komponen (Smith, Abbott and Ryder, 2014)

ΔT_f menunjukkan perbedaan *freezing point* suatu komposisi eutektik dari campuran *binary* komponen A dan B dibandingkan dengan T_f campuran ideal. ΔT_f berhubungan dengan besarnya interaksi antara A dan B (Smith, Abbott and Ryder, 2014). Garam amonium kuarterner seperti *choline chloride* dapat dijadikan pelarut dengan digabungkan dengan suatu *complexing agent*.

Terdapat tiga tipe *complexing agent* yaitu *metal salt*, *hydrated salt mixtures* dan *hydrogen bond donor* (HBD). Tipe pertama yaitu *metal salt* mudah dibuat dan tidak bereaksi dengan air serta memiliki viskositas yang besar, biasanya digunakan untuk proses *coating* karena bersifat resisten terhadap korosi. Tipe kedua yaitu *hydrated salt mixtures* lebih rendah viskositasnya dibandingkan tipe pertama, tipe ini biasanya digunakan untuk

proses *plating*. Sedangkan tipe ketiga yaitu *hydrogen bond donor*, dimana pelarut yang dihasilkan disebut *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) dapat digunakan sebagai *solvent* untuk berbagai proses.

DES dapat dibuat dengan cara mencampurkan *hydrogen bond donor* (HBD) dan *hydrogen bond acceptor* (HBA) pada suhu yang sesuai. Abbott dan groupnya, tahun 2003, memperoleh DES pertama kali dari interaksi antara *chorine chloride* (*melting point* 302 °C) dengan urea (*melting point* 133 °C). Kombinasi kedua bahan awal yang berbentuk padatan pada molar ratio tertentu ini menghasilkan campuran eutektik yang mana berbentuk cair pada suhu lingkungan (*melting point* 12 °C untuk molar ratio 2:1) dan menunjukkan propertis pelarut yang berbeda dengan propertis pelarut pada umumnya. Ikatan hidrogen dan gaya Van der Waals mempengaruhi kemampuan senyawa awal untuk mengkristalisasi. HBA bisa melindungi muatan ketika berada pada daerah sekitar HBD tertentu dan selanjutnya DES kemudian akan terbentuk.

2.3 Penelitian Terdahulu

Tabel 3. Penelitian Terdahulu

Pustaka	Tujuan Penelitian	Hasil Penelitian
(Tønnesen and Karlsen, 1985)	Mempelajari kestabilan kurkumin pada pH = 1–11 dan nilai pKa untuk disosiasi gugus enol dan fenol.	<ul style="list-style-type: none"> • Ekstraksi dengan pelarut etil asetat memberikan <i>recovery</i> kurkumin $\geq 90\%$ • <i>Ethyl-acetate</i> adalah solvent ekstraksi terbaik karena sampel dapat secara langsung diinjeksikan ke kolom HPLC dan tahap penguapan pelarut pada sampel tidak perlu dilakukan. • Larutan kurkumin dalam metanol yang disimpan pada suhu -70°C selama satu tahun

		<p>tidak mengalami perubahan kandungan kurkumin</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reaksi degradasi kurkumin ($\text{pH} < 7$) $\sim 100\times$ lebih cepat pada larutan encer • Konstanta laju reaksi degradasi pseudo orde dua teramati untuk semua degradasi • Kurkumin diketahui memiliki tiga konstanta disosiasi yaitu: $\text{pK}_{\text{a}1} = 7,8$ (disosiasi gugus enol); $\text{pK}_{\text{a}2} = 8,5$ dan $\text{pK}_{\text{a}3} = 9,0$ (disosiasi gugus fenol) pada senyawa H_3A, H_2A^-, dan HA^{2-} saat suhu $31,5^\circ\text{C}$ • Kurkumin dapat membentuk kompleks dengan berbagai garam yang umum digunakan dalam sistem buffer (<i>borate, citrate, phthalate</i>)
(Wang et al., 1997)	Mempelajari kinetika degradasi kurkumin pada berbagai kondisi pH, serta mempelajari karakteristik produk degradasinya.	<ul style="list-style-type: none"> • Kurkumin terdekomposisi dengan sangat cepat ($>90\%$) pada sistem buffer ($\text{pH } 7,2$) pada suhu 37°C • Kestabilan kurkumin rendah dengan adanya paparan cahaya, sekitar 5% kurkumin mengalami penurunan absorbansi ketika diuji pada botol kaca bening dibanding botol kaca gelap • Degradasi kurkumin (37°C) mengikuti kinetika reaksi orde satu ($k = 0,073/\text{menit}$)
(Harada et al., 2011)	Mempelajari interaksi antara	<ul style="list-style-type: none"> • Kurkumin dalam sistem buffer fosfat memiliki <i>peak</i> sekitar 430

	<p>kurkumin dengan γ-CD dimer dan <i>surfactant micelles</i>.</p>	<p>nm dan <i>shoulder</i> 350 nm (hasil interaksi antara kurkumin dengan air).</p> <ul style="list-style-type: none"> • 60% kurkumin terdegradasi pada sistem buffer fosfat (pH 7,4) selama 10 menit. • Diamide yang terkait dengan γ-CD dimer merupakan system yang sangat menjanjikan karena kestabilan kurkumin yang efektif.
(Banerjee et al., 2014)	<p>Mempelajari pengaruh enkapsulasi kurkumin pada nanopartikel polimer (NP).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Peak</i> kurkumin dalam air diperoleh pada 431 nm/350 nm • Laju degradasi kurkumin dalam <i>Poly(styrene-ran-2-hydroxyethyl acrylate)</i> sebesar 12%, dalam <i>Poly(styrene-ran-4-formylphenyl acrylate)</i> sebesar 7% dan dalam <i>Poly(styrene-ran-4-vinylbenzyl chloride)</i> sebesar 19% setelah 48 jam • Nano-partikel polimer dapat menjadi stabilizer yang baik untuk kurkumin
(Mondal et al., 2016)	<p>Mempelajari kestabilan kurkumin pada berbagai pelarut (protik, aprotik, polar, non polar), larutan encer dan cairan ionik selama satu bulan.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Kurkumin memiliki panjang gelombang maksimum 430 nm pada berbagai pelarut polar (air, Ethylene Glycol, Glycerol Yeast dan Dimethylformamide) • Dalam larutan encer, kurkumin memiliki <i>peak</i> 427 nm (gugus enol) dan <i>shoulder</i> 360 nm (gugus keto) • Dengan menurunnya temperatur, intensitas

		<p>fluorescence kurkumin juga menurun</p> <ul style="list-style-type: none"> • Laju degradasi kurkumin pada pelarut organik: ethylene glycol > 1,4 dioxane > isopropanol > DMSO > ethanol • Degradasi meningkat 0,65% per jam (pH 7) pada suhu 303 K dalam air • Pada media encer, kurkumin tetap berada dalam bentuk keto dan enol yang mana secara normal dapat dirubah menjadi bentuk enol baik pada pelarut protik maupun aprotik • Degradasi kurkumin terjadi dengan $k = 0,003/\text{menit}$ pada 303 K
--	--	--

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan gelas sederhana, neraca analitik, *hot plate*, dan spektrofotometer OPTIMA SP-300 *Spectrophotometer* (Japan) dengan *cuvette quartz suprasil* (Hellma Analytics, Germany).

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa kurkumin standard (8.20354.0010, Merck). Bahan-bahan pembuat NADES: *D(-)-Fructose* ($\geq 99\%$, 1.04007.0250, Merck); *D(+)-Glucose* (1.08337.1000, Merck); *DL-Malic Acid* ($\geq 99,5\%$, 1.00382.0250, Merck); *Citric acid* teknis (no brand); 1,2 Propandiol (8.22324.1000, Merck); *Choline Chloride* ($\geq 98\%$, C7527-500G, SIGMA); Glycerol; dan *Aquadest*. Metanol p.a. (J.T. Baker), dan asam asetat glasial *anhydrous* analytical grade (100%, 1.00063.2500, Merck) digunakan sebagai pelarut.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Tetap

1. Waktu uji kestabilan : 96 jam untuk masing-masing NADES.
2. Suhu uji kestabilan : 40 °C.
3. Serbuk *Kurkumin* standar dan rasio pelarut yang digunakan yaitu sebesar 4 mg/10 mL NADES (0,4 mg/mL NADES).

3.2.2 Variabel Bebas

1. Komposisi NADES yang digunakan: MAG-H₂O (1:1:18), LAG-H₂O (5:1:3), ProCC-H₂O (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2), CCF-H₂O (5:2:4), CCMA-H₂O (1:1:18), dan CCCA-H₂O (1:1:18)

2. Pengenceran hingga kandungan air menjadi 30%-70% berat pada NADES yang paling stabil.
3. Suhu uji stabilitas: 40 °C dan suhu kamar (28 °C).

3.2.3 Variabel Respon

Kestabilan kurkumin dapat diketahui dengan mengukur kadar kurkuminoid sepanjang waktu (sesuai waktu pengamatan yang ditentukan) untuk selanjutnya dianalisa secara spektrofotometri UV-Vis.

3.3 Metode Penelitian

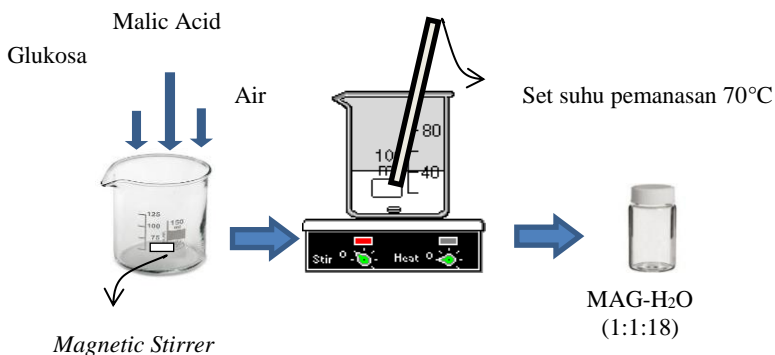
Secara garis besar penelitian ini dilakukan dengan 2 (dua) tahap. Tahap pertama, pembuatan NADES dari senyawa-senyawa kimia penyusunnya dijelaskan secara detail pada **subbab 3.3.1**. Tahap selanjutnya, tahap kedua, uji kestabilan kurkumin dalam NADES (**subbab 3.3.2**).

Uji kestabilan ini dilakukan secara bersama-sama menggunakan tujuh jenis NADES yang berbeda (**subbab 3.2.2**), MAG-H₂O (1:1:18), LAG-H₂O (5:1:3), ProCC-H₂O (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2), CCF-H₂O (5:2:4), CCMA-H₂O (1:1:18), dan CCCA-H₂O (1:1:18). Uji kestabilan dilakukan pada 40 °C, 350 rpm kecepatan pengadukan, dan rentang waktu hingga 96 jam. Setelah didapatkan jenis NADES yang mampu mempertahankan kestabilan kurkumin hingga 96 jam, maka uji kestabilan selanjutnya dilakukan dengan memvariasikan kandungan air dalam NADES tsb (60% -berat air) dan suhu uji (suhu ruang 30°C).

3.3.1 Pembuatan *Natural Deep Eutetic Solvents* (NADES)

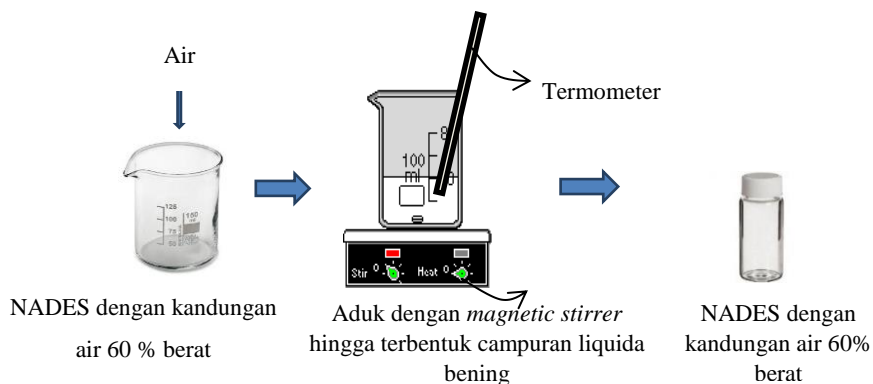
Semua *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) yang digunakan dalam penelitian ini dipersiapkan berdasarkan metode yang dilakukan Dai *et al.* (2013). Komponen-komponen penyusun (misal: *Malic Acid*, Glukosa, dan air untuk MAG-H₂O) dicampurkan sesuai dengan rasio mol yang telah ditentukan (1:1:18) pada botol tertutup; nilai 1 adalah rasio mol untuk *Malic Acid* (MA), 1 adalah rasio mol untuk glukosa (G) dan 18 adalah

rasio mol untuk air (H_2O). Sehingga MAG- H_2O (1:1:18) memiliki kandungan air sebesar 60%-berat. Campuran tersebut diaduk pada suhu $70^\circ C$ menggunakan *magnetic stirrer* dalam *water bath* hingga diperoleh campuran berbentuk *liquida* yang bening.



Gambar 2. Skema Pembuatan NADES

NADES tipe lain dibuat dengan cara yang sama, dengan memperhitungkan berat masing-masing komponen pembentuknya sesuai dengan perbandingan rasio mol yang telah ditetapkan.



Gambar 3. Skema Pembuatan NADES Pengenceran air sebanyak 60%-berat

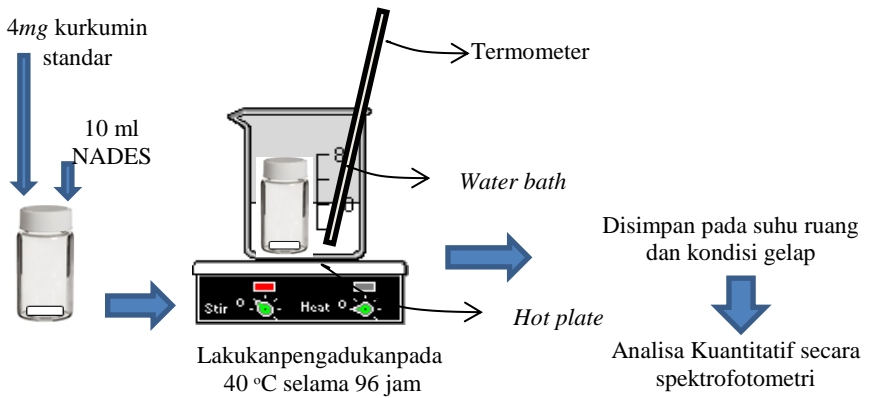
Khusus NADES dengan variasi berat kandungan air dibuat dari NADES yang telah terbentuk sebelumnya; selanjutnya NADES tersebut ditambahkan sejumlah tertentu air hingga kandungan airnya mencapai persen (%) berat atau sesuai dengan variabel yang telah ditentukan.

3.3.2 Uji Linieritas

Kurkumin standar dilarutkan dalam 1% asam asetat dalam metanol sehingga diperoleh konsentrasi (0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; dan 5 ppm). Setiap konsentrasi tersebut dianalisa dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada uji selektivitas (425 nm) sehingga didapatkan absorbansi untuk setiap konsentrasi. Kemudian kurva standar dibuat sebagai fungsi konsentrasi (ppm) *versus* absorbansi.

3.3.3 Uji Kestabilan Kurkuminoid terhadap *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES)

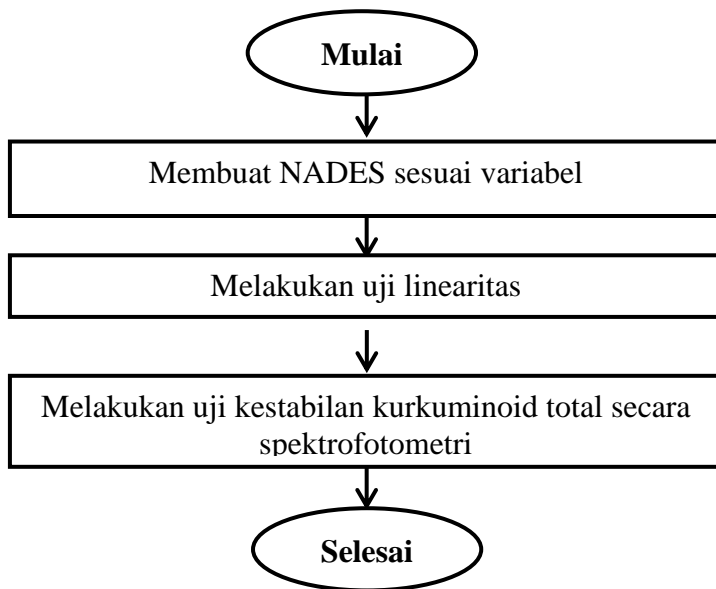
Serbuk kurkumin standar sebanyak 4 mg ditimbang secara akurat, dimasukkan kedalam botol sampel *amberlite* tertutup kemudian ditambahkan 10 mL NADES yang sudah ditimbang akurat, dan dimasukkan *magnetic stirrer* sebagai pengaduk sampel. Kemudian sampel dipanaskan di dalam *water bath* menggunakan *hot plate* pada suhu 40°C. Proses pengadukan dilakukan selama 24-96 jam, dalam rentang waktu tersebut dilakukan pengambilan sampel sebanyak ± 100 μL untuk dianalisa secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 425 nm.



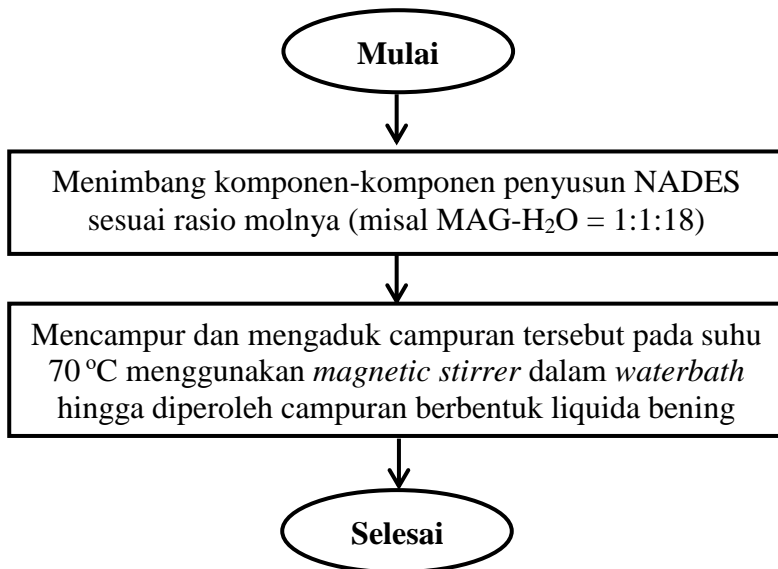
Gambar 4. Skema Uji Kestabilan Kurkuminoid di dalam NADES

3.4 Diagram Alir Metode Penelitian

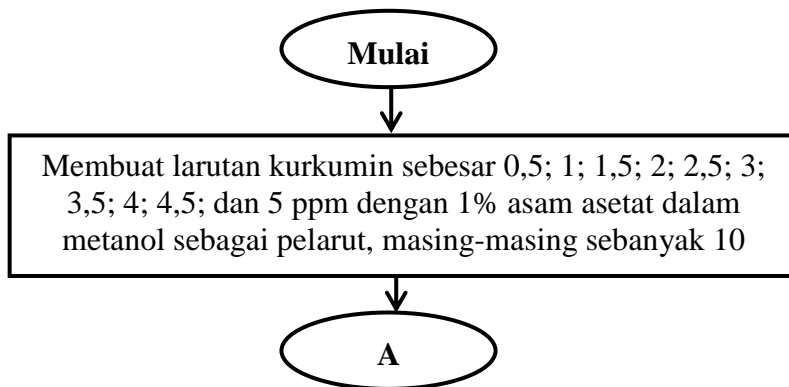
3.4.1 Diagram Alir Penelitian Secara Keseluruhan

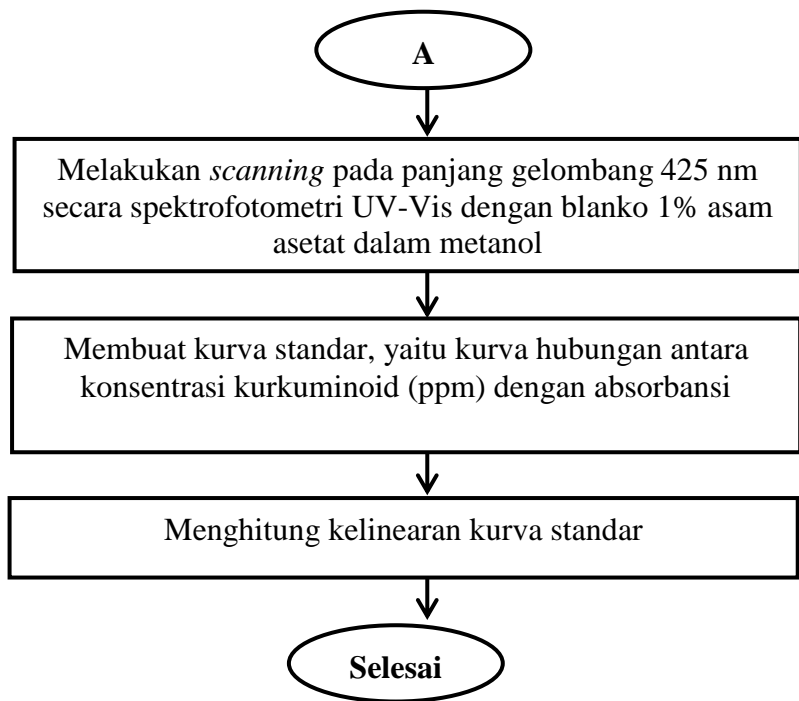


3.4.2 Diagram Alir Pembuatan *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES)

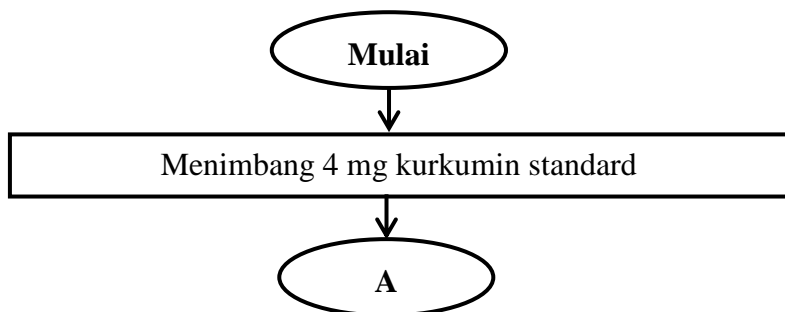


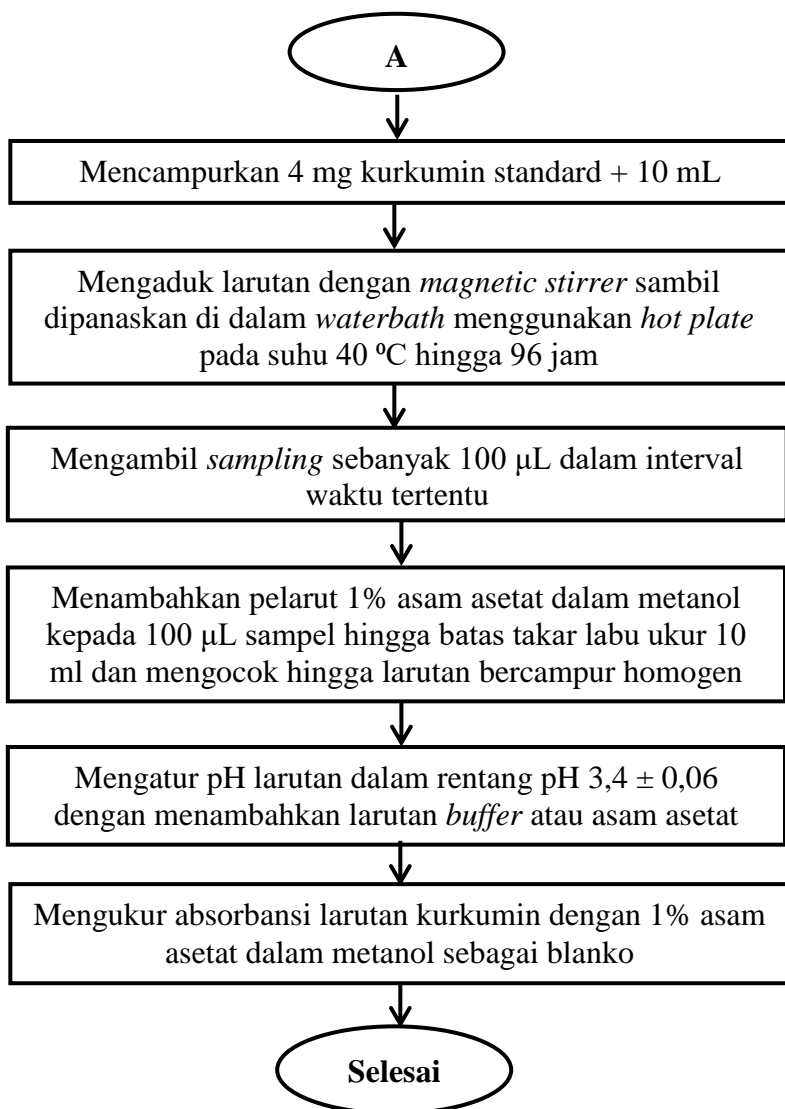
3.4.3 Diagram Alir Uji Linearitas





3.4.4 Diagram Alir Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)





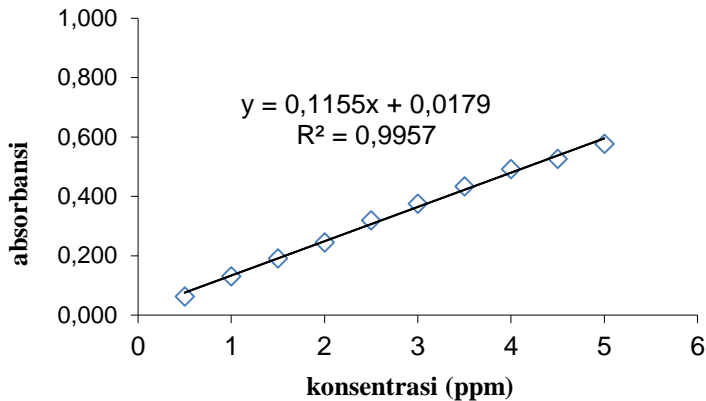
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Linearitas Spektrofotometri

Analisis secara spektrofotometri UV-Vis dilakukan spektrofotometer OPTIMA SP-300 *Spectrophotometer* (Japan) dengan panjang *cell* 10 mm menggunakan *cuvette quartz suprasil* (Hellma Analytics, Germany). *Spectrophotometer* yang digunakan mempunyai *wavelength range* 190-1100 nm dan *spectral bandwidth* $5\pm 1,0$ nm. Larutan baku induk dan sampel uji dilarutkan dalam metanol:asam asetat glasial = 99:1 (v/v). Uji linearitas terlebih dahulu dilakukan untuk mengkalibrasi spektrofotometer terhadap sampel. Metode analisa kurkuminoid dalam sampel NADES secara spektrofotometri Vis yang digunakan sebelumnya telah diuji dan divalidasi terlebih dahulu. Linearitas umumnya dinyatakan sebagai kurva garis regresi dari respon pengukuran instrumen sebagai fungsi kenaikan kadar analit.

Linearitas dilakukan dengan 5 kadar konsentrasi yang berbeda dengan pengenceran secara serial menggunakan larutan baku induk yang sama (Chan, 2004, ICH, 1994). Uji linearitas dilakukan dengan menimbang secara akurat kurkumin standard 1 ± 4 mg, dilarutkan menggunakan labu ukur dengan menambahkan pelarut berupa metanol:asam asetat glasial = 99:1 (v/v) hingga volumenya mencapai batas labu ukur 10 mL. Selanjutnya, larutan yang diperoleh disebut larutan baku induk kurkumin dengan konsentrasi 400 ppm (400 mg/L). Pengenceran secara serial dilakukan dari larutan baku induk tersebut dengan konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; dan 5 ppm. Setiap konsentrasi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Vis pada $\lambda = 425$ nm secara *fourlicate*, kemudian dibuat kurva dari respon absorbansi yang diperoleh (**Gambar 1**). Hasil uji menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan linier dengan rentang konsentrasi 0,5-5 ppm dengan persamaan garis regresi $y = 0,1155x + 0,0179$ dan $R^2 = 0,9957$.



Gambar 5. Kurva Kalibrasi

4.2 Sifat Fisik NADES

Enam NADES yang berbeda dipilih untuk penelitian ini: *Malic acid*-Glukosa-air (MAG-H₂O = 1:1:18), *1,2 Propanediol-Choline Chloride*-air (ProCC = 1:1:1), *Choline Chloride*-Gliserol-air (CCGo-H₂O = 2:1:2), *Choline Chloride-Malic acid*-air (CCMA-H₂O = 1:1:18), *Choline Chloride-Fruktosa*-air (CCF-H₂O = 5:2:4), *Choline Chloride-Citric Acid*-air (CCCA-H₂O = 1:1:18) dan masing-masing diukur sifat-sifat fisiknya: densitas, viskositas, dan polaritas (**Tabel 4**).

Sifat fisik masing-masing NADES beragam sesuai dengan komposisi mereka (Dai et al., 2013a). NADES jenis ProCC-H₂O (1:1:1) dan CCGo-H₂O (2:1:2) memiliki viskositas tinggi, 22,397 dan 12,306 cp, diikuti dengan CCF-H₂O (5:2:4), MAG-H₂O (1:1:18), dan CCCA-H₂O (1:1:18). Terlihat CCMA-H₂O (1:1:18) memiliki viskositas yang paling rendah, 1,790 cp. Viskositas NADES dipengaruhi oleh kandungan air dan suhu (Dai et al., 2013b). Terlihat NADES dengan kandungan air rendah lebih viskos dan sebaliknya (**Tabel 4**). Pelarut dengan viskositas rendah memiliki koefisien difusi yang lebih tinggi sehingga tingkat ekstraksi meningkat (Mulia et al., 2015). Kekurangan utama

NADES bila dibandingkan dengan pelarut konvensional adalah viskositasnya yang relatif tinggi. Viskositas diketahui menghambat efisiensi NADES sebagai pelarut ekstraksi; menyebabkan lambatnya proses transfer massa. Viskositas NADES berbeda sesuai dengan komposisi senyawa-senyawa penyusunnya, pada umumnya permasalahan tingginya viskositas ini diatasi dengan penambahan sejumlah air (Dai et al., 2013b).

Berbeda dengan viskositas, senyawa-senyawa penyusun NADES, mol rasio, dan kandungan air mempengaruhi besar/kecilnya densitas NADES. Densitas semua NADES yang diuji lebih besar daripada densitas air (Dai et al., 2013a), dan semakin tinggi kandungan air di dalam NADES maka densitas NADES akan semakin mendekati nilai densitas air.

Polaritas adalah properti penting lain dari suatu pelarut, karena mempengaruhi kapasitas pelarutannya. Telihat NADES ProCC-H₂O (1:1:1) adalah yang nilai polaritas tertinggi, 49,42 kkal.mol⁻¹, diikuti oleh NADES CCGo-H₂O (2:1:2), CCF-H₂O (5:2:4), dan MAG-H₂O (1:1:44) (**Tabel 4**), selanjutnya CCA-H₂O (1:1:18), CCMA-H₂O (1:1:18), dan yang terakhir adalah MAG-H₂O (1:1:18).

Dai et al. (2013b) mengatakan NADES berbasis gula dan polialkohol menghasilkan NADES dengan kepolaran yang tinggi, selain polaritas NADES dipengaruhi oleh penambahan air atau kandungan air di dalamnya. Evaluasi polaritas PCH dan asam laktat-glukosa-air (LGH) dengan berbagai rasio air menunjukkan terjadinya perubahan polaritas NADES seiring dengan penambahan air (Dai et al., 2013b).

Tabel 4. Sifat Fisik dari NADES pada suhu ruang (28 °C)

NADES	Densitas (g/cm ³)	Viskositas (cP)	Polaritas (kkal/mol)	pH*	HBD	HBA
MAG-H ₂ O (1:1:18)	1,211	3,462	47,77	1,753	Malic acid	Glukosa
MAG-H ₂ O (1:1:44)	1,023	1,990	47,99	2,476	Malic acid	Glukosa
ProCC-H ₂ O (1:1:1)	1,091	22,397	49,42	3,179	1,2- Propanediol	Choline Chloride
CCGo-H ₂ O (2:1:2)	1,119	12,306	48,56	4,634	Gliserol	Choline Chloride
CCMA-H ₂ O (1:1:18)	1,116	1,790	47,80	2,215	Malic acid	Choline Chloride
CCCA-H ₂ O (1:1:18)	1,143	2,175	47,91	1,522	Citric acid	Choline Chloride
CCF-H ₂ O (5:2:4)	1,139	8,982	48,30	5,811	Fruktosa	Choline Chloride
Air	0,992**	1**	48,21	-	-	-
Etanol	0,807	5,018	49,47	-	-	-
Metanol	0,791**	3,105**	51,89	-	-	-
Aseton	0,786	2,749	51,52	-	-	-

*pH terukur adalah pH NADES yang telah diencerkan 10x dengan aquadest

**Air dan methanol diukur pada suhu 40 °C (Dai et al., 2013a)

4.3 Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam NADES

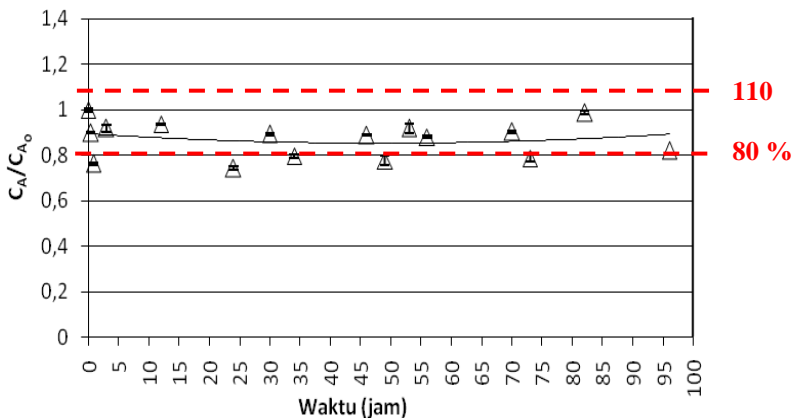
Uji ini sangat penting untuk mempertimbangkan stabilitas larutan selama proses ekstraksi dan analisis batch, juga dalam masa penyimpanan sampel (Dai et al., 2016). Uji kestabilan kurkuminoid dilakukan pada 40 °C selama 96 jam (waktu pengamatan divariasikan hingga 96 jam). Kurkuminoid dikatakan stabil jika konsentrasi kurkuminoid terdeteksi (secara spektrofotometri) masih dalam rentang %recovery yang diijinkan, 80-110%, dan $RSD \leq 7,3\%$ (Yuwono and Indrayanto, 2005); dengan sampel uji kurkuminoid 4 ppm maka rentang konsentrasi yang diperbolehkan adalah 3,2-4,4 ppm. Sehingga, apabila kurkuminoid terdeteksi (setelah beberapa waktu pengamatan) 80-110 %recovery, maka kurkuminoid dikatakan stabil (memiliki nilai $C_A/C_{A0} = 0,8-1,10$).

Kestabilan kurkuminoid dalam NADES diujikan pada berbagai jenis NADES: MAG-H₂O (1:1:18), ProCC (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2), CCMA-H₂O (1:1:18), CCF-H₂O (5:2:4), dan CCCA-H₂O (1:1:18).

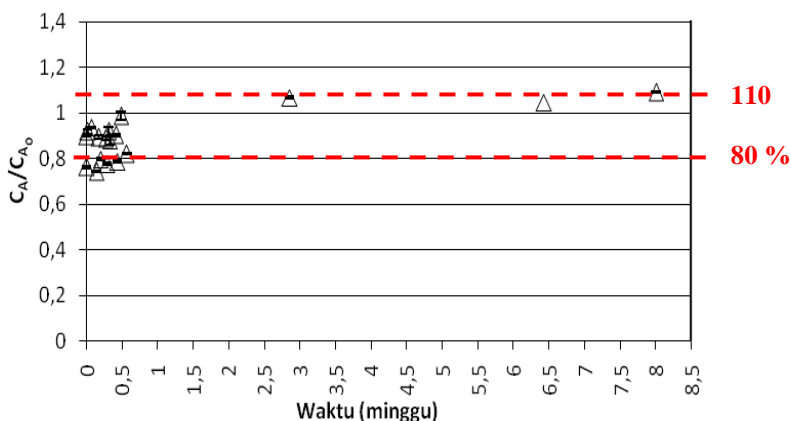
NADES golongan asam seperti MAG-H₂O (1:1:18) merupakan NADES yang paling stabil dibandingkan dengan NADES golongan netral dan basa (ProCC = 1:1:1, CCGo-H₂O = 2:1:2, dan CCF-H₂O = 5:2:4) (Dai et al., 2013a). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kurkuminoid terlarut dalam CAS-H₂O (1:2:79), CAS-H₂O (1:2:15), MAS-H₂O (1:1:18) dan MAS-H₂O (1:1:11) lebih stabil dibandingkan FG-H₂O (1:1:17) (Yuwono and Indrayanto, 2005). Sejalan dengan hasil penelitian tersebut (Yuwono and Indrayanto, 2005), dalam penelitian ini, kurkuminoid terlarut dalam MAG-H₂O (1:1:18) lebih stabil dibandingkan NADES jenis lain yang dipelajari. Hasil pengukuran kurkuminoid terdeteksi (C_A/C_{A0}) terlihat relative lebih seragam dan berada dalam *range* yang diijinkan, %recovery 80-110%. Walaupun di beberapa waktu tertentu, pengamatan kurkuminoid terdeteksi mengalami kenaikan pada menit awal yaitu menit ke 5 dan menit ke 112. Kenaikan serupa terjadi pada menit terakhir pengamatan (**Gambar 6**). Untuk mengetahui kestabilan kurkuminoid dalam NADES MAG-H₂O (1:1:18) lebih lanjut,

sampling dilanjutkan dan dilakukan pengamatan 2 minggu sekali pengambilan sampel hingga 8 minggu (**Gambar 7**). Terlihat MAG-H₂O (1:1:18) memberikan kestabilan kurkuminoid hingga 8 minggu/2 bulan waktu penyimpanan.

Kestabilan kurkuminoid ini diduga berhubungan erat dengan kondisi pH NADES MAG-H₂O (1:1:18), pH = 1,753. Kurkumin sangat tidak stabil pada Pada pH > 7, sedangkan untuk mendapatkan stabilitas optimal dari kurkumin, pH harus dijaga pH<7 (Tønnesen and Jan, 1985). Pada kondisi asam (pH< 7), degradasi kurkumin berjalan jauh lebih lambat, kurang dari 20% dari total kurkumin terdekomposisi pada 1 jam (Kumavat et al., 2013). Peningkatan stabilitas kurkumin dalam kondisi pH asam dipengaruhi oleh struktur diena terkonjugasi (Zebib et al., 2010). Sedangkan, ketika dalam aqueous sistem (seperti air), pada pH basa gugus fenol asam pada kurkumin mendonorkan hidrogennya membentuk ion fenolat, yang memungkinkan adanya dissolution pada kurkumin dalam air (Kumavat et al., 2013).



Gambar 6. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H₂O = 1:1:18 (40°C, 96 jam)



Gambar 7. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H₂O = 1:1:18 (40°C, 8 minggu)

Ikatan hidrogen dari NADES juga berpengaruh terhadap stabilitas kurkuminoid. Fazriyah dan Seftiyani (2017) melaporkan bahwa penggunaan NADES berbasis asam (MAS-H₂O = 1:1:18) dalam ekstraksi menyebabkan ketidakstabilan kurkuminoid dalam NADES. Ketidakstabilan kurkuminoid ini diduga akibat ikatan hydrogen antara komponen-komponen penyusun NADES dengan kurkuminoid. *Malic acid* misalnya, memiliki lebih banyak gugus hidroksil (—OH) dibandingkan dengan sukrosa pada NADES MAS-H₂O (1:1:18). Semakin banyak gugus hidroksil dan/ataupun karboksil dalam komponen penyusun NADES, maka akan semakin banyak kurkuminoid yang diikat melalui ikatan hydrogen sehingga kestabilan kurkuminoid akan lebih baik. Akan tetapi, lebih lanjut, kami tidak dapat menunjukkan dengan pasti apakah kurkuminoid membentuk ikatan hydrogen dengan *malic acid*, sukrosa, ataupun dengan keduanya.

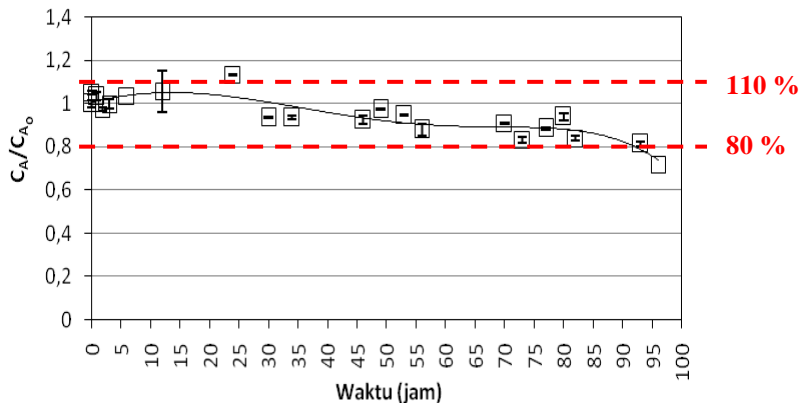
Kestabilan kurkuminoid yang cukup baik terlihat saat MAG-H₂O (1:1:18) digunakan sebagai pelarut, terlihat kurkuminoid cukup stabil hingga 8 minggu/2 bulan waktu penyimpanan (**Gambar 7**). Jumlah *hydrogen bond donor* (HBD) dan *hydrogen bond acceptor* (HBA) dari masing-masing komponen NADES

mempengaruhi pembentukan dan stabilitas NADES serta kemampuan NADES dalam mengekstrak senyawa target.

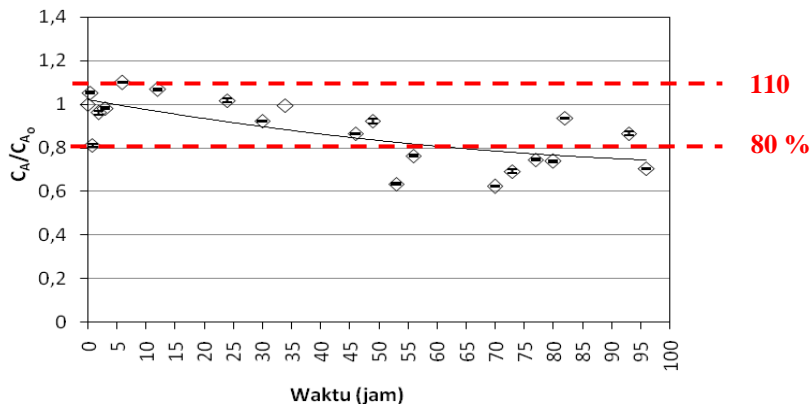
NADES MAG-H₂O (1:1:18), *malic acid* bertindak sebagai HBD dan glukosa sebagai HBA (**Tabel 4**) sehingga terbentuk ikatan hidrogen. Kestabilan kurkuminoid pada MAG-H₂O (1:1:18) juga dikarenakan adanya gugus hidroksil atau karboksil pada *malic acid*. Kehadiran gugus hidroksil (—OH) atau karboksil (—C=O—) memungkinkan lebih banyak ikatan hidrogen yang terbentuk (Dai et al., 2013a), sehingga akan lebih banyak kurkuminoid yang terikat melalui ikatan hidrogen dan lebih stabil. Sedangkan untuk NADES MAS-H₂O (1:1:18), *malic acid* bertindak sebagai HBD dan sukrosa bertindak sebagai HBA. Glukosa mempunyai lebih banyak gugus hidroksil (—OH) dibandingkan dengan sukrosa (**Gambar 22**). Maka dari itu, melalui ikatan hidrogennya glukosa lebih stabil dibandingkan dengan sukrosa.

Selanjutnya pada NADES jenisbasa yaitu NADES yang tersusun atas senyawa yang bersifat basa seperti choline chloride, betaine dan senyawa bersifat netral seperti gula-gula (glukosa, fruktosa, sukrosa) dan polialkohol (gliserol, 1,2-propanediol); dalam penelitian ini digunakan ProCC-H₂O (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2) dan CCF-H₂O (5:2:4). Kurkuminoid terlihat cenderung tidak stabil (rentang waktu 96 jam) (**Gambar 8-11**). Kurkuminoid terlarut pada ProCC-H₂O (1:1:1) cenderung mengalami penurunan (**Gambar 8**), pada jam ke 77-96. NADES CCGo-H₂O (2:1:2), dengan rentang waktu pengamatan 96 jam juga menunjukkan kestabilan kurkuminoid yang kurang baik (**Gambar 9**). Kurkuminoid cenderung tidak stabil terhitung dari jam ke 55. Pengamatan terus dilanjutkan hingga 10 minggu penyimpanan (**Gambar 10**) dan menunjukkan ketidakstabilan yang nyata. Hingga pada minggu ke-10, hanya terdapat 60% (dari awal) kurkuminoid yang dapat terdeteksi secara spektrofotometer UV-Vis. Trend yang sama juga teramati pada NADES CCF-H₂O (5:2:4) (**Gambar 11**). Terlihat bahwa kestabilan kurkuminoid cenderung menurun selama 96 jam pengamatan. Memperhatikan sifat fisik

NADES (**Tabel 4**), CCF-H₂O (5:2:4) memiliki nilai pH yang paling besar diantara NADES-NADES yang dipelajari, yaitu pH= 5,811. Kondisi pH NADES yang tinggi, memberikan kondisi yang kurang baik terhadap kestabilan kurkuminoid.

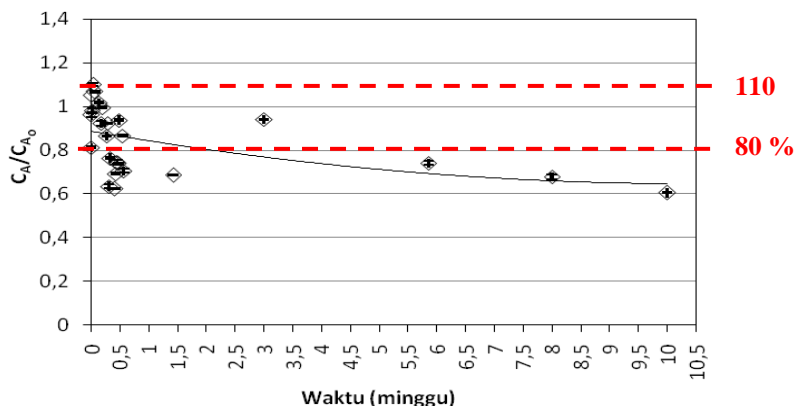


Gambar 8. Kestabilan Kurkuminoid dalam ProCC-H₂O = 1:1:1 (40°C, 96 jam)

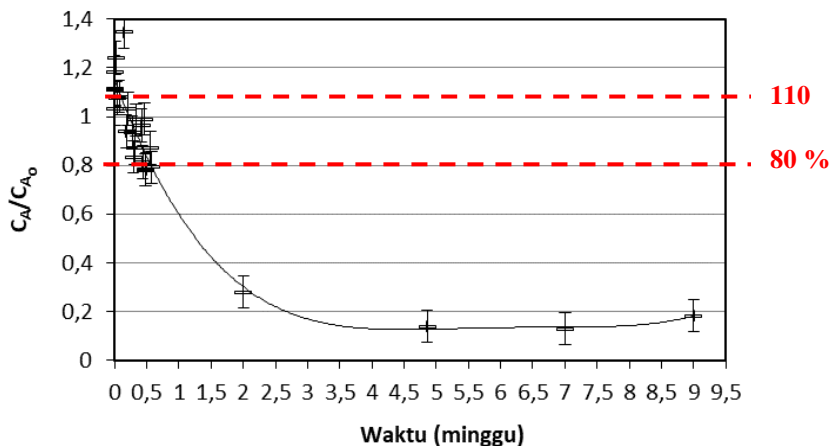


Gambar 9. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCGo-H₂O = 2:1:2 (40°C, 96 jam)

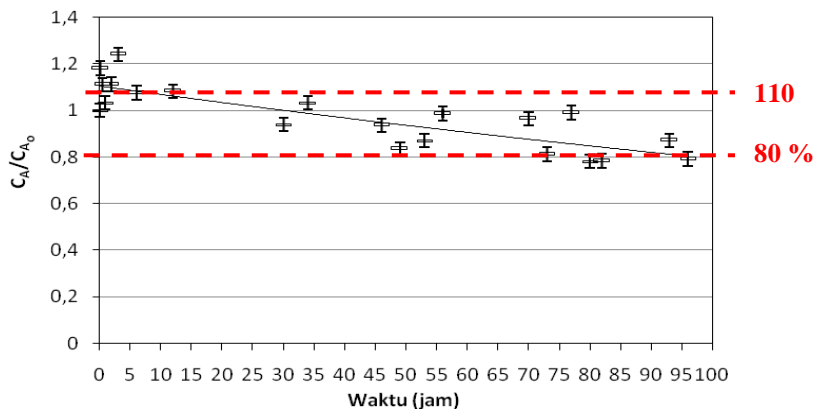
Telah diketahui, molekul kurkumin akan stabil, jika elektron yang tidak berpasangan dari fenolik OH diberikan ke cincin, yaitu bertindak sebagai donor. Dan ketidakstabilan terjadi ketika elektron non ikatan pada atom oksigen dari gugus OH diberikan ke ikatan hidrogen intermolekular (Tonnesen, 2002).



Gambar 10. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCGo-H₂O = 2:1:2
(40°C,10 minggu)

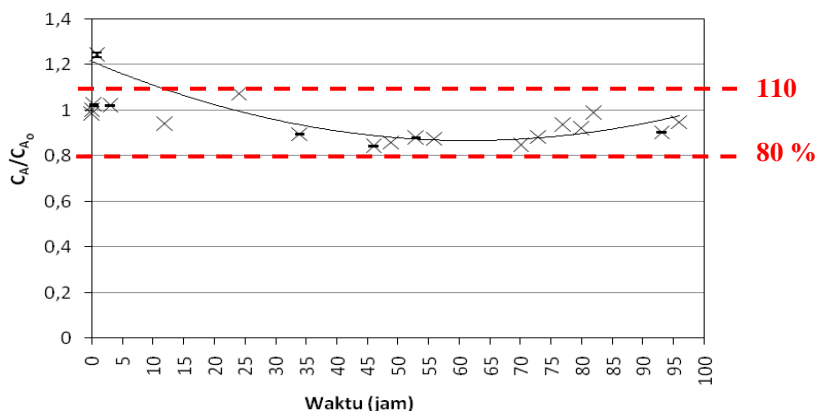


Gambar 11. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCF-H₂O = 5:2:4 (40°C, 96 jam)

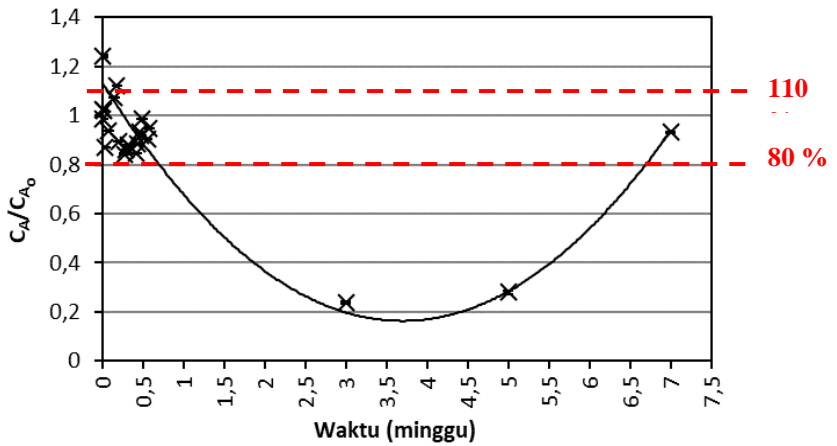


Gambar 12. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCF-H₂O = 5:2:4 (40°C, 9 minggu)

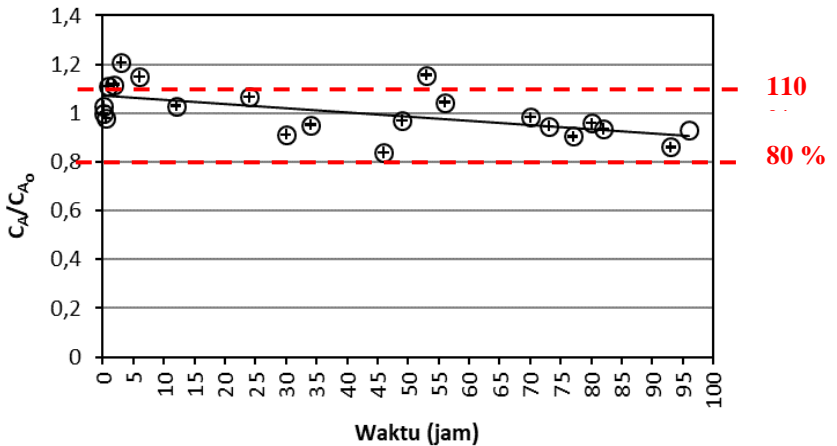
NADES CCMA-H₂O (1:1:18) dan CCCA-H₂O (1:1:18) merupakan NADES golongan ionik, tersusun atas senyawa asam seperti *malic acid* dan *citric acid* serta senyawa basa seperti *choline chloride*. CCMA-H₂O (1:1:18) memberikan kestabilan kurkuminoid yang lebih baik dibandingkan NADES jenis basa yang dipelajari ProCC-H₂O (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2), dan CCF-H₂O (5:2:4)) (**Gambar 13**). Namun, uji kestabilan kurkuminoid lebih lanjut dalam CCMA-H₂O (1:1:18) hingga rentang waktu 7 minggu dalam masa penyimpanan, memberikan hasil yang sebaliknya (**Gambar 14**); ketidakstabilan pada kurkuminoid. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh CCCA-H₂O (1:1:18) (**Gambar 15 dan 16**).



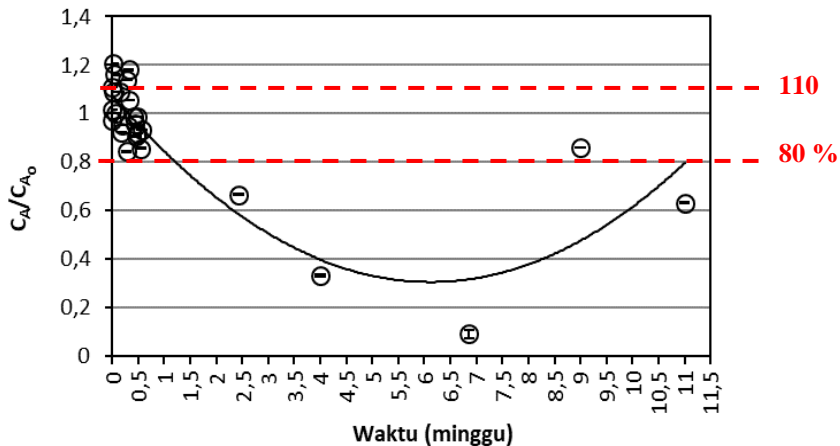
Gambar 13. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCMA-H₂O = 1:1:18 (40°C, 96 jam)



Gambar 14. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCMA-H₂O = 1:1:18 (40°C, 9 minggu)



Gambar 15. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCCA-H₂O = 1:1:18 (40°C, 96 jam)

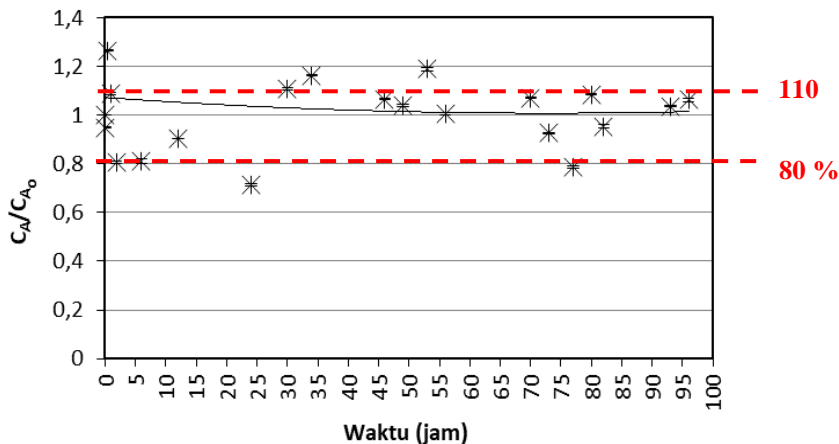


Gambar 16. Kestabilan Kurkuminoid dalam CCCA-H₂O = 1:1:18 (40°C, 11 minggu)

4.3.1 Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam *Malic Acid* - Glukosa (MAG-H₂O = 1:1:44) Pengenceran 60% berat

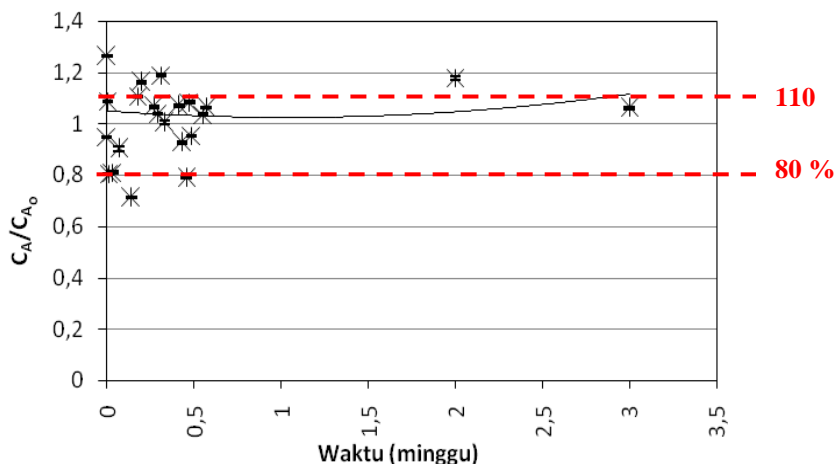
NADES MAG-H₂O (1:1:44) merupakan pengenceran lebih lanjut MAG-H₂O (1:1:18) hingga kandungan airnya 60% berat. Salah satu aplikasi dari NADES adalah potensi penggunaannya sebagai pelarut. Sifat fisik dan kapasitas pelarutan NADES dapat dimodifikasi dengan penambahan sejumlah kecil air. Air merupakan faktor penting dalam mengoptimalkan pemanfaatan NADES. Sebagaimana yang telah dilaporkan oleh Dai et al. (2013a), rutin menunjukkan kelarutan tertinggi pada CCG-H₂O (2:5:5), kandungan air 5% (v/v), sedangkan carthamin paling larut dalam CCG-H₂O (2:5:5) dengan penambahan air 10 % (v/v) (Dai et al., 2013a). Penambahan sejumlah kecil air ke NADES (pengenceran NADES) memiliki efek lain seperti mengurangi waktu dan suhu persiapan, serta dapat menurunkan viskositasnya (Dai et al., 2013a). NADES dapat diencerkan tanpa kehilangan

sifatnya sebagai NADES dengan penambahan air 25-50% berat (Choi et al., 2011).

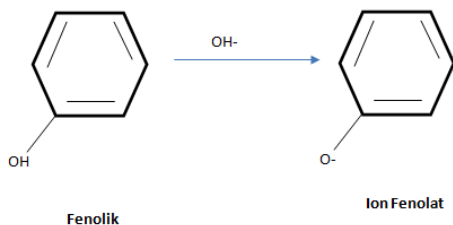


Gambar 17. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H₂O = 1:1:44 (40°C, 96 jam)

NADES MAG-H₂O (1:1:44) memberikan kestabilan yang kurang baik terhadap kurkuminoid (**Gambar 17**). Pengenceran lebih lanjut >50 % akan menyebabkan hilangnya sifat NADES; dimungkinkan akibat hilangnya ikatan hidrogen yang ada sehingga hilangnya struktur khusus dalam NADES (Dai et al., 2013a). Selain itu, pada system *aquoeus* seperti air, gugus fenol asam pada kurkumin menyumbangkan hidrogennya membentuk ion fenolat, yang memungkinkan kurkumin mengalami *dissolution* kurkumin dalam air (Kumavat et al., 2013) (**Gambar 19**). Sebagaimana kurkumin, gugus fenol pada DMC dan BDMC juga memungkinkan terbentuknya ion fenolat.



Gambar 18. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H₂O = 1:1:44 (40°C, 3 minggu)

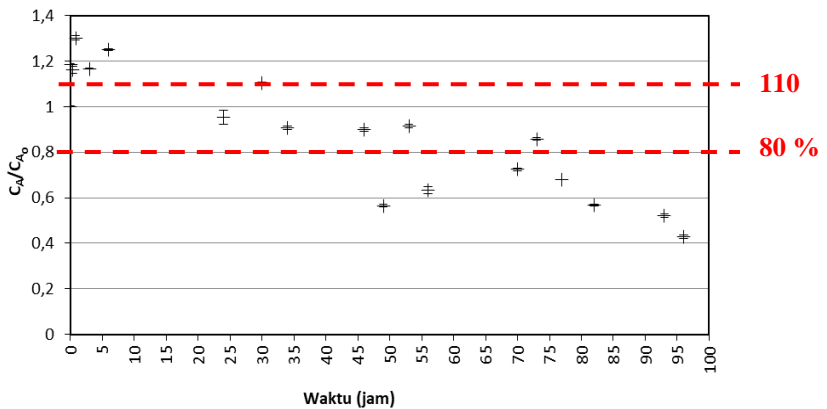


Gambar 19. Pembentukan Ion Fenolat

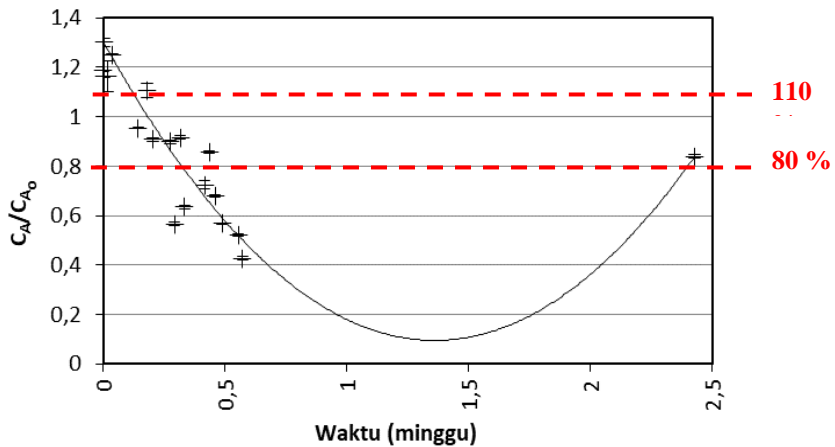
4.3.2 Uji Kestabilan Kurkuminoid dalam *Malic Acid*–Glukosa-Air (MAG-H₂O = 1:1:18) pada suhu kamar (28 °C)

Terlihat kurkuminoid terlarut dalam MAG-H₂O (1:1:18) pada suhu ruang (30 °C) memberikan kestabilan yang kurang baik (**Gambar 20**). Kurkuminoid cepat terdegradasi/terdekomposisi pada kurun waktu pengamatan yang telah ditentukan, 96 jam, hingga 60% kurkumin telah terdegradasi.

Stabilitas kurkumin dalam bentuk nanoemulsi telah dilaporkan oleh (Utomo, 2015). Kestabilan nanoemulsi kurkumin diamati pada tiga kondisi suhu penyimpanan yang berbeda (40 °C, suhu kamar, dan 50 °C.). Nanoemulsi kurkumin mengalami ketidakstabilan pada hari ke-30 saat disimpan pada suhu kamar. Ketidakstabilan nanoemulsi temulawak dapat dilihat dengan terbentuknya koalesen, diindikasikan dengan terbentuknya agregasi dipermukaan sediaan. Ukuran nanoemulsi pada saat terbentuk koalesen mencapai 212.3 nm. Pembentukan koalesen teramati saat ukuran partikel > 100 nm, mengakibatkan hilangnya karakteristik suatu nanoemulsi. Utomo (2015), mengamati terbentuknya koalesen pada hari ke-10, dimana ukuran partikel teramati menjadi 105,67 nm (Utomo, 2015).



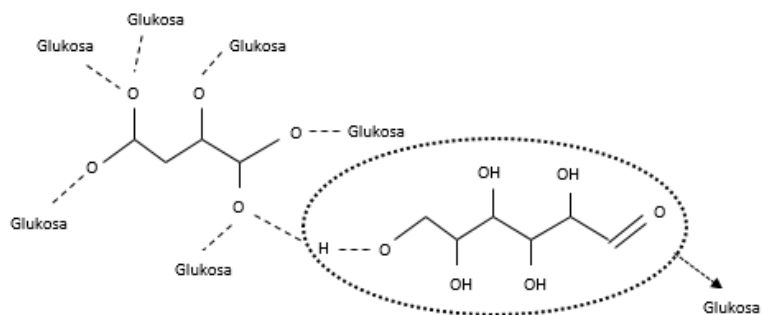
Gambar 20. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H₂O= 1:1:18 pada suhu ruang hingga 96 jam



Gambar 21. Kestabilan Kurkuminoid dalam MAG-H₂O= 1:1:18 pada suhu ruang hingga 2,5 minggu

Mempertimbangkan kesamaan kondisi suhu yang dipelajari, suhu kamar 30 °C, dengan tsb oleh Utomo (2015); disimpulkan ketidakstabilan kurkuminoid terlarut dalam *Malic Acid*-Glukosa (MAG-H₂O) pada suhu ruang diakibatkan karena adanya koalesen dari kuruminoid. Namun, kami tidak mengamati ataupun mengukur partikel dari kurkuminoid terlarut dalam MAG-H₂O itu sendiri.

Salah satu faktor yang mempengaruhi ketidakstabilan kurkumin dalam NADES adalah terjadinya degradasi. Degradasi kurkumin diakibatkan adanya oksidasi pada permukaan kristal cair. Mencairkan kristal atau padatan dengan meningkatkan suhu atau menambahkan air, memungkinkan fenolat menyebar secara bebas pada sistem larutan dan sehingga terjadi oksidasi (Dai et al., 2014).



Gambar 22. Kemungkinan terbentuknya ikatan hidrogen pada
Malic Acid - Glukosa

Halaman Ini Sengaja Dikosongkan

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian uji kestabilan kurkuminoids di dalam NADES secara Spektrofotometri UV-VIS dapat disimpulkan bahwa:

1. NADES tipe asam dan ionik menjadi pelarut paling baik untuk kestabilan kurkuminoid dibandingkan NADES tipe basa
2. Pada suhu 40 °C selama 96 jam, NADES MAG-H₂O (1:1:18) memberikan kestabilan paling baik pada kurkuminoid dibandingkan NADESProCC (1:1:1), CCGo-H₂O (2:1:2), CCF-H₂O (5:2:4), CCMA-H₂O (1:1:18), dan CCCA-H₂O (1:1:18).
3. NADES MAG-H₂O (1:1:18) pada suhu 40 °C selama 96 jam memiliki kestabilan pada kurkuminoid yang sangat baik dibandingkan pada suhu ruang (30 °C) dengan waktu yang sama.
4. Pengenceran NADES >50% berat H₂O menyebabkan hilangnya sifat NADES, sehingga memberikan ketidakstabilan kurkuminoid dalam NADES. Hal ini dibuktikan dengan percobaan pada NADES MAG-H₂O (1:1:44) pada suhu 40 °C selama 96 jam.
5. Kestabilan kurkuminoid dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu tipe/jenis, komponen penyusun, pH, waktu penyimpanan, dan kandungan air dalam NADES.
6. Kemampuan kestabilan NADES tampaknya berkorelasi dengan interaksi ikatan hidrogen yang kuat antara masing-masing komponen NADES itu sendiri dan juga molekul dari kurkuminoid.

5.2 Saran

1. Analisa lanjut terhadap ada/tidaknya produk degradasi kurkumin, seperti vanillin, *ferulic acid*, dan lain-lain.
2. Metode analisa pembandingan (misal HPLC) perlu dilakukan sebagai pembandingan dan pendamping hasil uji spektrofotometri UV-Vis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, Andrew P., Capper, Glen, Davies, David L., Rasheed, Raymond K. & Tambyrajah, Vasuki 2003. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures Electronic supplementary information (ESI) available: spectroscopic data. 70-71.
- Aggarwal, B. B., Deb, L. & Prasad, S. 2014. Curcumin Differs From Tetrahydrocurcumin For Molecular Targets, Signaling Pathways And Cellular Responses. *Molecules*, 20, 185-205.
- Algusta A. I. & Wardana W. W (2018). Validasi Metode Kurkuminoid Dalam *Natural Deep Eutectic Solvents* (Nades) Golongan Netral Dan Asam Secara Spektrofotometri Uv-Vis Dan Uji Kestabilannya. *Skripsi Institut Teknologi Sepuluh Nopember*, iii.
- Bagchi, Anamika 2012. Extraction of Curcumin. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 1, 01-16.
- Banerjee, C., Maiti, S., Mustafi, M., Kuchlyan, J., Banik, D., Kundu, N., Dhara, D. & Sarkar, N. 2014. Effect of Encapsulation of Curcumin in Polymeric Nanoparticles: How Efficient to Control ESIPT Process? *Langmuir*, 30, 10834-10844.
- Chan, Chung Chow 2004. Analytical Method Validation And Instrument Performance Verification. *Strategies, Validation Practices, and Parameters*, 1-299.
- Choi, Y. H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W., Witkamp, G. J. & Verpoorte, R. 2011. Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology? *Plant Physiology*, 156, 1701-1705.
- Dai, Y., Rozema, E., Verpoorte, R. & Choi, Y. H. 2016. Application of Natural Deep Eutectic Solvents to The Extraction of Anthocyanins from *Catharanthus Roseus* with High Extractability and Etability Replacing

- Conventional Organic Solvents. *Journal of Chromatography A*, 50-56.
- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R. & Choi, Y. H. 2013a. Natural Deep Eutectic Solvents as New Potential Media for Green Technology. *Analytica Chimica Acta*, 1-31
- Dai, Y., Verpoorte, R. & Choi, Y. H. 2014. Natural Deep Eutectic Solvents Providing Enhanced Stability of Natural Colorants from Safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chemistry*, 159, 116-121.
- Dai, Y., Witkamp, G. J., Verpoorte, R. & Choi, Y. H. 2013b. Natural Deep Eutectic Solvents as a New Extraction Media for Phenolic Metabolites in *Carthamus tinctorius* L. . *Analytical Chemistry*, 85, 6272-6278.
- Fauziyah, R., & Widiana, W. (2017). Ekstraksi Kurkuminoid dari Rimpang Curcuma mangga menggunakan Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) Golongan Ionik dan Netral. *Skripsi Institut Teknologi Sepuluh Nopember*, 52.
- Fazriyah, L. J., & Seftiyani, N. H. (2017). Pengaruh Kandungan Air terhadap Perolehan Yield Kurkuminoid dari Rimpang Curcuma mangga menggunakan Natural Deep Eutectic Solvents (NADES). *Skripsi Institut Teknologi Sepuluh Nopember*, 59.
- Francisco, M., van den Bruinhorst, A. & Kroon, M. C. 2013. Low-Transition-Temperature Mixtures (LTTMs): A New Generation of Designer Solvents. *Angew Chem Int Ed*, 52, 3074-3085.
- Gupta, S. C., Kismali, G. & Aggarwal, B. B. 2013. Curcumin, a Component of Turmeric: From Farm to Pharmacy. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 39, 2-13.
- Harada, T., Pham, D. T., Leung, M. H., Ngo, H. T., Lincoln, S. F., Easton, C. J. & Kee, T. W. 2011. Cooperative Binding and Stabilization of The Medicinal Pigment Curcumin by Diamide Linked γ -Cyclodextrin Dimers: A Spectroscopic

- Characterization. *Journal of Physical Chemistry*, 115, 1268-1274.
- Hartati, Sri Yuni 2013. Khasiat Kunyit Sebagai Obat Tradisional dan Manfaat Lainnya. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 19.
- Heger, M., van Golen, R. F., Broekgaarden, M. & Michel, M. C. 2014. The Molecular Basis for the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Curcumin and Its Metabolites in Relation to Cancer. *Pharmacological Reviews*, 66, 222-307.
- ICH 1994. Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2 (R1). 1-15.
- Kumavat, Suresh D, ., Yogesh S, Chaudhari. , Priyanka, Borole, Preetesh, Mishra., Khusbu, Shenghani & Pallavi, Duvvuri 2013. Degradation Studies of Curcumin *International Journal of Pharmacy Review & Research* 3, 50-55.
- Liu, Dong, Schwimer, Joshua, Liu, Zhijun, Woltering, Eugene A. & Greenway, Frank L. 2009. Antiangiogenic Effect of Curcumin in Pure Versus in Extract Forms. *Pharmaceutical Biology*, 46, 677-682.
- Mondal, S., Ghosh, S. & Moulik, S. P. 2016. Stability of Curcumin in Different Solvent and Solution Media: UV-Visible and Steady-state Fluorescence Spectral Study. *Journal Photochem Photobiol* 158, 212-218.
- Mulia, Kamarza, Krisanti, Elsa, Terahadi, Felita & Putri, Sylvania 2015. Selected Natural Deep Eutectic Solvents for the Extraction of α -Mangostin from Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Pericarp. *International Journal of Technology*, 6.
- Perrone, D., Ardito, F., Giannatempo, G., Dioguardi, M., Troiano, G., Lo Russo, L., A, D. E. Lillo, Laino, L. & Lo Muzio, L. 2015. Biological and Therapeutic Activities, and Anticancer Properties of Curcumin. *Exp Ther Med*, 10, 1615-1623.

- Pongrakhananon, Varisa. & Rojanasakul., Yon 2011. Anticancer Properties of Curcumin. 345-368.
- Rajalingam, K., Schreck, R., Rapp, U. R. & Albert, S. 2007. Ras Oncogenes and Their Downstream Targets. *Biochim Biophys Acta*, 1177-1195.
- Salim, Michael., Albert Susanto & Stefanus, Dicky 2014. Terapi Nanopartikel Albumin-Kurkumin Atasi Kanker Payudara Multidrug Resistant. *IAI Continuing Professional Development*, 41.
- Singh, M. & Singh, N. 2009. Molecular Mechanism of Curcumin Induced Cytotoxicity in Human Cervical Carcinoma Cells. *Mol Cell Biochem*, 325, 107-119.
- Srimal, R. 1997. *Turmeric: A Brief Review of Medicinal Properties*.
- Tønnesen, Hanne Hjorth. & Jan, Karlsen . 1985. Studies on Curcumin and Curcuminoids VI. Kinetics of Curcumin Degradation in Aqueous Solution 402-404.
- Utomo, Muhammad Fachrizal Pria Budi 2015. Karakteristik Nanoemulsi Temulawak. 1-29.
- Valizadeh Kiamahalleh, M., Najafpour-Darzi, G., Rahimnejad, M., Moghadamnia, A. A. & Valizadeh Kiamahalleh, M. 2016. High Performance Curcumin Subcritical Water Extraction from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1022, 191-198.
- Vogel, A., & Pelletier, J. (1815). Examen chimique de la racine de Curcuma. *Journal de Pharmacie*, 1, 289–300.
- Wang, Ying-Jan ., Min-Hsiung Pan, Cheng., Ann-Lii, Lin, Liang-In, Ho, Yuan-Soon, Hsieh, Chang-Yao & Lin, Jen-Kun 1997. Stability of Curcumin in Buffer Solutions and Characterization of Its Degradation Products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15.
- Welton, Thomas. 1999. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis. *Chemical Reviews*, 99.

- Yuwono, Mochammad. & Indrayanto, Gunawan. 2005. Validation of Chromatographic Methods of Analysis. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology* Volume 32.
- Zebib, B., Mouloungui, Z. & Noirot, V. 2010. Stabilization of curcumin by complexation with divalent cations in glycerol/water system. *Bioinorg Chem Appl*, 292760.
- Zhao, Dongbin, Liao, Yongcheng & Zhang, Ziding 2007. Toxicity of Ionic Liquids. *Clean – Soil, Air, Water*, 35, 42-48.